

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

O USO DA TOXINA BOTULÍNICA NA APLICAÇÃO ESTÉTICA: EFICÁCIA, SEGURANÇA E PERSPETIVAS FUTURAS

Trabalho submetido por
Judite Otto Marçal Fraústo Basso
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Novembro de 2025

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

O USO DA TOXINA BOTULÍNICA NA APLICAÇÃO ESTÉTICA: EFICÁCIA, SEGURANÇA E PERSPETIVAS FUTURAS

Trabalho submetido por
Judite Otto Marçal Fraústo Basso
para a obtenção do grau de **Mestre** em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Profa. Doutora Inês Maria Candeias Carpinteiro

e coorientado por
Profa. Doutora Maria Deolinda Auxtero

Novembro de 2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família e aos meus amigos, pelo apoio incondicional, compreensão e incentivo ao longo de todo este percurso.

A presença, a força e as palavras de encorajamento de cada um foram essenciais para a concretização desta etapa tão importante da minha vida.

À minha orientadora e coorientadora, pela orientação, disponibilidade e acompanhamento fundamentais para a realização deste trabalho.

RESUMO

A Toxina Botulínica tipo A (BoNT/A) é uma neurotoxina produzida pela bactéria *Clostridium botulinum*, reconhecida como uma das substâncias mais potentes e versáteis da medicina moderna (Kehayova et al., 2025). Inicialmente aplicada em contextos neuromusculares, a sua utilização expandiu-se amplamente para fins estéticos, devido à capacidade de reduzir temporariamente a contração muscular e suavizar rugas dinâmicas (Kehayova et al., 2025). O presente trabalho tem como objetivo analisar a eficácia, segurança e perspectivas futuras da BoNT/A na medicina estética, com base em evidência científica recente e regulamentação farmacêutica.

A pesquisa abrangeu revisões sistemáticas e ensaios clínicos que demonstram a previsibilidade dos resultados, o perfil de segurança favorável e a elevada satisfação dos utentes.

Os principais efeitos adversos descritos incluem ptose palpebral, edema e equimose, geralmente transitórios e associados a falhas técnicas (Lima et al., 2025). A prática segura depende do cumprimento das boas práticas de reconstituição, conservação e rastreabilidade, bem como da formação adequada dos profissionais (Kehayova et al., 2025). Conclui-se que a BoNT/A mantém-se como uma ferramenta estética eficaz e segura, cuja evolução técnica e regulamentar continuará a reforçar a confiança dos profissionais e dos pacientes na sua utilização (Santos et al., 2025).

Palavras-chave: Toxina botulínica tipo A; Medicina estética; Eficácia e segurança; Farmacovigilância.

ABSTRACT

Botulinum toxin type A (BoNT/A) is a neurotoxin produced by the bacterium *Clostridium botulinum*, recognized as one of the most potent and versatile substances in modern medicine (Kehayova et al., 2025). Initially applied in neuromuscular contexts, its use has expanded widely for aesthetic purposes due to its ability to temporarily reduce muscle contraction and smooth dynamic wrinkles (Kehayova et al., 2025). The present study aims to analyze the efficacy, safety, and future prospects of BoNT/A in aesthetic medicine, based on recent scientific evidence and pharmaceutical regulations.

The research covered systematic reviews and clinical trials demonstrating the predictability of results, favorable safety profile, and high user satisfaction.

The main adverse effects described include eyelid ptosis, edema, and ecchymosis, which are usually transient and associated with technical failures (Lima et al., 2025). Safe practice depends on compliance with good practices for reconstitution, storage, and traceability, as well as adequate training of professionals (Kehayova et al., 2025). It is concluded that botulinum toxin type A remains an effective and safe aesthetic tool, whose technical and regulatory evolution will continue to reinforce the confidence of professionals and patients in its use (Santos et al., 2025).

Keywords: Botulinum toxin type A; Aesthetic medicine; Efficacy and safety; Pharmacovigilance.

Índice

1. Introdução.....	13
1.1 Justificação e Enquadramento	13
1.2 Metodologia de Revisão	14
2. Fundamentação Teórica	15
2.1 História da Toxina Botulínica	15
2.1.2 Aprovações Regulatórias (FDA, EMA, Infarmed).....	19
2.3 Estrutura Molecular e Serótipos	23
2.3.1 Mecanismo de Ação e Papel das Proteínas Complexas	24
2.3.2 Técnicas Avançadas e Aplicações Emergentes.....	26
3. Protocolo de Aplicação e Técnica	28
3.1 Seleção dos Pontos de Injeção	28
3.2 Áreas de Aplicação	29
3.3 Formulações, Diluições e Dosagem.....	38
3.4 Normas de Conservação, Rastreabilidade e Farmacovigilância	39
4. Avaliação da Eficácia.....	42
4.1 Parâmetros Objetivos e Subjetivos de Avaliação.....	42
4.2 Evidência Clínica e Fotografias Comparativas.....	44
5. Segurança e Complicações	45
5.1 Perfil de Segurança	45
5.2 Contraindicações.....	48
5.3 Normas dos Órgãos Reguladores e Reporte Obrigatório.....	49
6. Perspetivas Futuras e Inovação.....	52
6.1 Novas Formulações Farmacêuticas	52
6.2 Perspetivas Futuras e Aplicações Emergentes	54
7. Discussão	56
7.1 Lacunas na Investigação e Limitações Atuais	56
8. Conclusão	58
9. Referências Bibliográficas.....	59

Índice de Figuras

Figura 1- Músculos de Expressão Facial (elaborada pelo autor, 2025).....	20
Figura 2- Pontos de aplicação para o tratamento do Complexo glabellar (elaborada pelo autor, 2025).	29
Figura 3- Músculos do Complexo Glabellar (elaborada pelo autor, 2025).	29
Figura 4- Pontos de aplicação no tratamento dos pés de galinha (elaborada pelo autor, 2025).....	30
Figura 5- Pontos de aplicação para as linhas de “coelho” (elaborada pelo autor, 2025).	31
Figura 6- Pontos de aplicação no tratamento da elevação da sobrancelha (1,2,3,4), tendo como tratamento adjuvante o aplicado no complexo glabellar (elaborada pelo autor, 2025).....	32
Figura 7- Pontos de aplicação para reduzir a contração do músculo frontal e eliminar as linhas horizontais da testa (elaborada pelo autor, 2025).	33
Figura 8- Pontos de tratamento das rugas peribucais do lábio superior e do lábio inferior (elaborada pelo autor, 2025).....	34
Figura 9- Pontos de aplicação (elaborada pelo autor, 2025).	35
Figura 10- Ilustração do chamado sorriso gengival: o antes e o após da aplicação da Toxina Botulínica (elaborada pelo autor, 2025).	35
Figura 11 - Região do sulco mentolabial, pontos de aplicação (elaborada pelo autor, 2025).....	36
Figura 12 - Técnica para tratamento das rugas horizontais do pescoço (elaborada pelo autor, 2025).	37
Figura 13- Zonas de aplicação da toxina (elaborada pelo autor, 2025).	37

Índice de Tabelas

Tabela 1- Principais músculos do terço superior da face, respectivas funções, rugas associadas e aplicações estéticas da BoNT/A.....	21
Tabela 2- Principais músculos do terço médio da face, respectivas funções, rugas ou expressões associadas e aplicações estéticas da BoNT/A.....	22
Tabela 3- Principais músculos do terço inferior e região cervical da face, respectivas funções, rugas ou alterações associadas e aplicações estéticas da BoNT/A.....	23
Tabela 4 - Principais formulações comerciais de toxina botulínica tipo A, respectivos fabricantes e formas farmacêuticas.....	38

Lista de Abreviaturas e Siglas

FDA: Food And Drug Administration

EMA: European Medicines Agency

HC: *Heavy Chain – C-terminal domain* (Domínio carboxi-terminal da cadeia pesada; responsável pela ligação da toxina aos recetores neuronais)

HN: *Heavy Chain – N-terminal domain* (Domínio amino-terminal da cadeia pesada; responsável pela translocação da cadeia leve para o citosol)

Zn²⁺: Ião zinco bivalente

SNARE: *Soluble NSF attachment protein receptor*

BoNT: Toxina Botulínica

BoNT/A: Toxina Botulínica Tipo A

BoNT/B: Toxina Botulínica Tipo B

BoNT/C: Toxina Botulínica Tipo C

BoNT/D: Toxina Botulínica Tipo D

BoNT/E: Toxina Botulínica Tipo E

BoNT/F: Toxina Botulínica Tipo F

BoNT/G: Toxina Botulínica Tipo G

NAPs: Neurotoxin-Associated Proteins

SV2: Synaptic Vesicle glycoprotein 2

GT1b: Gangliosídeo GT1b

VAMP: Vesicle-associated membrane protein

SNAP-25: Synaptosomal-Associated Protein, 25 kDa

EMG: Eletromiografia

PGA: *Physician Global Assessment* (Escala de Avaliação Global do Investigador)

GLSS: Glabellar Lines Severity Scale (Escala de Severidade das Linhas Glabellares)

DLQI: Dermatology Life Quality Index

EVA: *Escala Visual Analógica*

FTS-Q: Facial Line Treatment Satisfaction Questionnaire

BPF: Boas Práticas de Fabrico

BPD: Boas Práticas de Distribuição

1. Introdução

1.1 Justificação e Enquadramento

O aumento do interesse pela aplicação da BoNT/A, sobretudo na medicina estética, reflete uma valorização global das intervenções minimamente invasivas para o rejuvenescimento facial e tratamentos de várias patologias musculares (Bashir & Khalid, 2025). Esta toxina começou a ser usada como ferramenta terapêutica pelo seu efeito neuromodulador seletivo, com uma eficácia já comprovada e perfil de segurança favorável, tornando-se um produto biotecnológico amplamente estudado e utilizado em vários contextos clínicos (Patel et al., 2022).

A BoNT é um objeto de estudo muito complexo, no contexto das ciências farmacêuticas, a sua conservação, distribuição e aplicação requerem um elevado rigor técnico e científico (Dressler, 2012). O farmacêutico é muito importante nesta cadeia do medicamento, sendo responsável por garantir a qualidade, rastreabilidade e segurança do produto assim contribuindo para a minimização de riscos e otimização de resultados clínicos (Santini, 2008).

A realização deste trabalho é justificada pela necessidade de consolidar e atualizar alguns conhecimentos científicos e regulatórios relativamente à BoNT na estética, abordando temas como os avanços recentes em formulações, técnicas de aplicação e inovação terapêutica e os desafios éticos, legais e de farmacovigilância.

A revisão da literatura tem também como objetivo identificar limitações e lacunas, fundamentando futuras investigações e práticas clínicas.

1.2 Metodologia de Revisão

Esta pesquisa foi realizada através de uma revisão detalhada de estudos e artigos científicos sobre a BoNT, com enfoque exclusivo nas suas aplicações estéticas. Para isso, foram consultadas bases de dados como PubMed, Scopus e Web of Science, onde foram procurados estudos relevantes nas áreas de medicina estética e farmacologia. A revisão incluiu estudos controlados e observacionais que descreveram como a toxina atua no contexto estético, abordando a sua eficácia na redução de rugas, linhas de expressão e outros procedimentos estéticos faciais, bem como os possíveis efeitos adversos.

Os estudos foram organizados de acordo com diferentes abordagens estéticas da toxina, analisando os resultados obtidos e as técnicas utilizadas.

2. Fundamentação Teórica

2.1 História da Toxina Botulínica

A BoNT representa um excelente exemplo da evolução do conhecimento científico: primeiramente associada a intoxicações alimentares graves para depois se tornar num fármaco biológico de ampla aplicação terapêutica e estética, atravessando vários marcos de microbiologia, toxicologia, biotecnologia e regulação sanitária, mostrando como a investigação clínica e farmacêutica transformou um “veneno” num recurso terapêutico valioso (Kostrzewa & Segura-Aguilar, 2007; Mukhopadhyay, 2023).

› Primeiras observações clínicas e a contribuição de Justinus Kerner

Justinus Kerner foi pioneiro na caracterização clínica: entre 1817 e 1822 publicou observações detalhadas sobre a relação de intoxicações alimentares com o consumo de salsichas (“*sausage poisoning*”), descrevendo manifestações neurológicas como vômitos, ptose, espasmos gastrointestinais, insuficiência respiratória, disfagia e midríase defendendo assim a hipótese de uma “substância tóxica” responsável pelos sintomas (Ali & Al-Niaimi, 2016; Erbguth, 2013)).

Avançou ainda com a ideia de que essa substância, em doses controladas, poderia ter utilidade terapêutica em estados de hiperatividade nervosa, originando assim a primeira intuição sobre o uso da toxina. J. Kerner concluiu ainda que esta toxina tinha origem biológica e animal, pois tentou produzi-la artificialmente várias vezes sem conseguir nenhum resultado (Carruthers & Carruthers, 2017).

› Isolamento microbiológico: Émile van Ermengem e o *Clostridium botulinum*

Émile van Ermengem deu o passo decisivo para a compreensão da etiologia do botulismo, em 1895 isolou o agente etiológico a partir de alimentos implicados num surto e de tecidos das vítimas mortais (Wilson et al., 1995). Van Ermengem identificou uma bactéria anaeróbia esporulada, inicialmente denominada *Bacillus botulinus* e posteriormente reclassificada como *Clostridium botulinum*, estabelecendo o vínculo microbiológico entre o microrganismo e a toxina (Hatheway, 2018).

› Investigação militar e controvérsias históricas (Fort Detrick)

Ao longo do século XX, a BoNT despertou interesse não apenas na medicina, mas também em contextos estratégicos, durante a Segunda Guerra Mundial e nas décadas seguintes, vários países desenvolveram programas de investigação militar para avaliar o seu potencial como agente de guerra biológica (Tatu & Feugeas, 2021). Nos Estados Unidos, por exemplo, esses esforços resultaram na criação de centros especializados, como Fort Detrick (Tatu & Feugeas, 2021).

Embora existam registos históricos sobre testes e estimativas da sua elevada toxicidade, incluindo projeções do potencial letal de quantidades mínimas de BoNT/A, o interesse militar acabou por ser gradualmente substituído por uma abordagem científica e terapêutica, principalmente após a assinatura de acordos internacionais, como a Convenção sobre Armas Biológicas de 1972, e devido às dificuldades técnicas e logísticas associadas à utilização da toxina como arma (Tatu & Feugeas, 2021).

Estes episódios históricos ajudam a compreender a razão pela qual, nas décadas seguintes, deu-se maior importância à segurança, ao controlo rigoroso e à investigação voltada para fins médicos e estéticos, transformando a BoNT num dos agentes terapêuticos mais estudados e regulados da atualidade (Tatu & Feugeas, 2021).

› Desenvolvimento experimental e produção farmacêutica

Ao longo do século XX ocorreu um desenvolvimento progressivo da toxina em relação às técnicas de produção, purificação e caracterização, incluindo a obtenção de formas cristalinas e concentrações controladas sendo assim permitido a realização de testes em modelos animais e humanos (Harshman, 1988). Com o contributo de universidades e centros de investigação de referência, foi possível desenvolver formulações com atividade biológica estável e reprodutível, o que proporcionou a condução de ensaios clínicos mais rigorosos e sustentou os primeiros processos de aprovação regulatória da BoNT para uso médico e, posteriormente, estético (Truong & Hallett, 2014).

› Transição para a clínica: aplicações oftalmológicas e neurológicas

A aplicação clínica da BoNT começou a ficar mais consolidada a partir da década de 1970, quando Alan Scott demonstrou que bastavam pequenas quantidades de BoNT/A

para reduzir a hipercontração de músculos extraoculares, beneficiando o tratamento do estrabismo com um perfil de segurança aceitável (Levy & Lowenthal, 2012). Estudos clínicos posteriores aumentaram as aplicações, incluindo o tratamento do blefaroespasma, distonias focais e diversas outras patologias neuromusculares (Levy & Lowenthal, 2012).

Com estes avanços, a primeira formulação comercial de OnabotulinumtoxinA, denominada Botox®, obteve aprovação pela FDA no final da década de 1980, representando um marco histórico na aplicação terapêutica da BoNT (Mehta & Nagar, 2024).

› Introdução e consolidação da toxina botulínica na estética

O uso estético da BoNT/A teve origem a partir de observações clínicas feitas em pacientes tratados para blefaroespasma e estrabismo, que apresentavam, de forma inesperada, redução das linhas de expressão facial (Lowe & Lowe, 2012). Esses resultados despertaram o interesse científico e impulsionaram a investigação do seu potencial em procedimentos estéticos (Lowe & Lowe, 2012).

A partir dessas observações, a toxina começou a ser estudada de forma mais sistemática para fins cosméticos, consolidando-se nas décadas seguintes como uma das substâncias mais seguras e eficazes no tratamento de rugas dinâmicas e na harmonização facial (Talarico et al., 2011).

Em 2002, a FDA aprovou oficialmente o uso da BoNT/A (Botox®) para o tratamento das rugas glabellares moderadas a severas, o que marcou um ponto de viragem e consolidou o seu estatuto como procedimento minimamente invasivo de referência (Shridharani & Kennedy, 2022).

Desde então, o uso da toxina expandiu-se para outras aplicações, incluindo indicações *off-label*, como hiperidrose axilar, sorriso gengival, hipertrofia masseterica e diminuição da produção sebácea e sudorípara, com consequente melhoria do aspeto cutâneo através da técnica de microbotox (Phan et al., 2021).

Atualmente, a BoNT é reconhecida como uma ferramenta terapêutica e estética de elevada previsibilidade e segurança, cuja consolidação resulta da combinação entre

eficácia comprovada, regulamentação rigorosa e evolução contínua das suas formulações e técnicas de aplicação (Herjan et al., 2025).

› Consolidação contemporânea, regulação e responsabilidade profissional

Atualmente a BoNT é importante na prática estética mundial, distinguindo-se pela previsibilidade dos resultados, reduzido tempo de recuperação e elevada satisfação do paciente (Machado et al., 2024). Ainda assim a sua natureza biológica requer a implementação de requisitos farmacêuticos rigorosos, cadeia de frio, liofilização, reconstituição assética e rastreabilidade (Dressler, 2020). É igualmente importante a criação de mecanismos de farmacovigilância para monitorizar eventos adversos e sinais de imunogenicidade (Gothe, 2024).

A diversidade de formulações comerciais (onabotulinumtoxinA, abobotulinumtoxinA, incobotulinumtoxinA, entre outras) e de serotipos ainda em investigação, indica tanto a maturidade científica como a procura por soluções que equilibrem duração do efeito, difusão tecidual e risco de formação de anticorpos (Truong et al., 2023; Gothe, 2024).

› Limitações históricas e questões atuais

Apesar do grande sucesso clínico e estético, a BoNT apresenta limitações específicas que derivam da sua própria história e do seu mecanismo de ação (Lee et al., 2024). Há potencial para a formação de anticorpos neutralizantes em regimes de tratamento prolongado, o que pode reduzir a eficácia terapêutica (Lee et al., 2024).

Como o efeito é transitório e requer reaplicações periódicas, o uso contínuo pode conduzir a atrofia muscular localizada, associada à redução gradual das fibras musculares nas áreas tratadas (Ramirez-Castaneda et al., 2013). Podem também ocorrer complicações técnicas relacionadas com a dose, a profundidade ou a difusão do produto (Ramirez-Castaneda et al., 2013).

Para além dos aspetos clínicos, o crescimento exponencial do uso da toxina em estética levanta também questões éticas importantes, como a banalização do procedimento, a desigualdade de acesso e a utilização precoce em faixas etárias jovens, fatores que exigem reflexão e uma regulação mais rigorosa (Kehayova et al., 2025; Gitin et al., 2023).

2.1.2 Aprovações Regulatórias (FDA, EMA, Infarmed)

A segurança do uso em procedimentos estéticos da BoNT é resultado da integração de propriedades farmacológicas, técnicas clínicas rigorosas e um exigente enquadramento regulamentar e ético, determinando assim as melhores práticas nesta área (Kehayova et al., 2025; Firmino, 2023).

As entidades reguladoras como a FDA, EMA e, em Portugal, o Infarmed desempenham um papel central na definição das indicações aprovadas, advertências de segurança, requisitos técnicos-farmacêuticos e processos de monitorização pós-comercialização (Gothe, 2024; Brin et al., 2014). Estas entidades têm como objetivo garantir a eficácia, segurança, rastreabilidade e reporte obrigatório de eventos adversos, essenciais num contexto de crescente procura por este tipo de procedimentos minimamente invasivos (Gothe, 2024; Brin et al., 2014).

A pioneira a aprovar a onabotulinumtoxinA (Botox®) para uso estético foi a FDA, em 2002, inicialmente para o tratamento das rugas glabellares moderadas a severas (Shridharani & Kennedy, 2022). Seguidamente a EMA validou múltiplas formulações comerciais de BoNT/A, incluindo Botox®, Dysport®, Xeomin® para indicações estéticas precisas como rugas dinâmicas faciais (Lowe, 2016). Foi exigido pelas diretivas europeias que a prescrição, dispensa e administração sejam realizadas apenas por profissionais médicos autorizados e qualificados, seguindo protocolos baseados em evidências clínicas (Gothe, 2024; Kehayova et al., 2025).

Em Portugal, o Infarmed segue as decisões da EMA, estabelecendo também regras para prescrições, dispensa e administração do medicamento (Cano Montejano, 2024). Formalmente são reconhecidas apenas indicações para as rugas glabellares, frontais e perioculares (Lewandowski et al., 2022). Outras utilizações frequentes como bruxismo, hiperidrose, microbotox e sorriso gengival permanecem sob regime *off-label* sendo assim obrigatório um consentimento informado específico (Лукьянов, n.d.).

Este enquadramento regulamentar, assegura que a utilização da BoNT em contexto estético decorra sob condições de responsabilidade técnica, segurança e eficácia, alinhando-se com padrões de credibilidade internacional (Лукьянов, n.d.).

2.2 Anatomia Funcional dos Músculos da Face

Como o efeito farmacológico da BoNT ocorre exclusivamente ao nível da junção neuromuscular, a compreensão aprofundada da anatomia funcional dos músculos faciais é essencial para a aplicação clínica e estética desta toxina (Amer et al., 2021). É igualmente essencial uma precisão na seleção dos pontos de injeção, na profundidade de administração (intradérmica, subcutânea ou intramuscular) e na dose utilizada (Cechanovičiūtė, 2024). A ausência de rigor destes pontos pode resultar em condições indesejadas, como ptose palpebral, assimetrias faciais ou difusão da toxina para músculos não-alvo (Cechanovičiūtė, 2024; Alimohammadi & Rostedt Punga, 2017).

Os músculos da face ao contrário de outros músculos esqueléticos não se inserem diretamente em estruturas ósseas, mas sim na derme ou em tecidos subcutâneos conferindo-lhes assim um papel determinante na mimica facial, expressão emocional e envelhecimento visível (Barros et al., 2020).

A contração destes músculos origina rugas dinâmicas, que estão presentes em qualquer indivíduo, durante as expressões faciais (Gk, 1954). Contudo, com o passar do tempo e a perda de elasticidade cutânea, estas rugas podem tornar-se permanentes, passando a designar-se rugas estáticas (Gk, 1954).

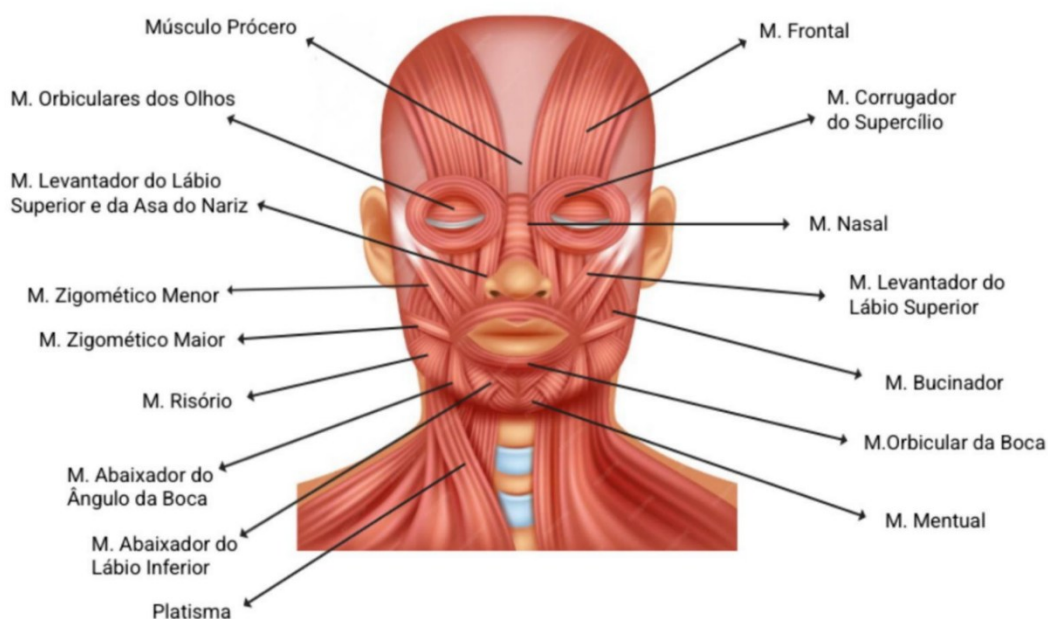


Figura 1- Músculos de Expressão Facial (elaborada pelo autor, 2025).

Tendo em conta o modo de ação da BoNT e a importância da anatomia facial, é fundamental compreender quais os músculos mais relevantes na mímica e no envelhecimento da face (D'Souza & Ng, 2020). Este conhecimento permite planejar a aplicação da toxina de forma precisa e segura, respeitando a dinâmica natural das expressões e evitando resultados artificiais (D'Souza & Ng, 2020).

De forma a sintetizar a informação e facilitar a sua compreensão, apresenta-se de seguida uma tabela que resume os principais músculos faciais, a sua função, as rugas ou expressões associadas e as respetivas indicações estéticas da BoNT/A, conforme descrito na literatura científica.

Tabela 1- Principais músculos do terço superior da face, respetivas funções, rugas associadas e aplicações estéticas da BoNT/A

Região anatómica	Músculo	Função Principal	Rugas ou Expressões Associadas	Aplicações Estéticas da Toxina Botulínica	Referências
Terço Superior	Frontal	Eleva as durante a expressão de espanto	Rugas horizontais da testa	Atenuação das linhas frontais, preservando naturalidade	(Lorenç et al., 2013; (Vieira et al., 2020)
	Corrugador do supercílio	Aproxima as sobrancelhas	Rugas verticais interglabulares	Suavização da expressão de preocupação	(Okazaki et al., 2025)
	Prócero	Deprime a região medial das sobrancelhas	Pregas horizontais na raiz nasal	Correção das rugas da glabella	(Khosh & Keen, 1995)
	Depressor do supercílio	Deprime as sobrancelhas medialmente	Linhas oblíquas glabulares	Correção complementar à região glabular	(Domínguez-Duarte, 2022; (Robinson et al., 2015)
	Orbicular dos olhos	Fecha as pálpebras e auxilia no sorriso	“pés de galinha” periorculares	Suavização das rugas periorculares	(Walden, 2008)

Tabela 2- Principais músculos do terço médio da face, respetivas funções, rugas ou expressões associadas e aplicações estéticas da BoNT/A

Região Anatômica	Músculo	Função Principal	Rugas ou Expressões Associadas	Aplicações Estéticas da Toxina botulínica	Referências
Terço Médio	Zigomático maior e menor	Elevam o ângulo da boca e o lábio superior	Sulco nasogeniano e rugas do sorriso	Harmonização e suavização do sorriso	(Mogrovejo et al., 2023)
	Levantador do lábio superior	Eleva o lábio superior	Rugas laterais do nariz e sorriso gengival	Correção do sorriso gengival e equilíbrio do sorriso	(Dantas et al., 2022)
	Levantador do ângulo da boca	Eleva o ângulo labial	Linhas do sorriso	Redução da tração excessiva e suavização do sulco nasogeniano	(Vidal et al., 2013)
	Depressor do septo nasal	Deprime o septo durante o sorriso	Descida da ponta do nariz	Elevação da ponta nasal e equilíbrio facial	(Pessoa et al., 2010)
	Nasal (porção transversa)	Controla a abertura das narinas	Rugas perinasais	Correção de hiperatividade nasal e flacidez perinasal	(Tamura et al., 2005; Schavelzon et al., 2016))

Tabela 3- Principais músculos do terço inferior e região cervical da face, respetivas funções, rugas ou alterações associadas e aplicações estéticas da BoNT/A

Região Anatômica	Músculo	Função Principal	Rugas ou Expressão Associada	Aplicações Estéticas da Toxina Botulínica	Referências
Região mandibular/ cervical	Masséter	Eleva a mandíbula (mastigação)	Contorno mandibular acentuado	Redução da hipertrofia e afinamento facial	(Лукьянов & Тагиева, 2024)
	Platisma	Tração inferior da mandíbula e tensão cervical	Bandas de platisma/ perda de contorno	Rejuvenescimento cervical e redefinição do ângulo cervicomandibular	(Hu et al., 2024)

As zonas de tratamento mais estudadas e aplicadas da BoNT/A incluem as regiões glabellar, frontal, periocular, perioral, massetéica e cervical (Patel et al., 2022). Entre estas, as regiões glabellar, frontal e periocular correspondem às indicações estéticas aprovadas por entidades reguladoras internacionais como a FDA, EMA e Infarmed, sustentadas por ensaios clínicos de fase III com elevados índices de eficácia e segurança (Kerscher et al., 2015).

Já as aplicações nas regiões perioral, massetéica e cervical são consideradas indicações expandidas ou *off-label*, amplamente validadas pela literatura científica e pela prática clínica, com resultados consistentes em harmonização facial, rejuvenescimento e equilíbrio funcional (Gart & Gutowski, 2015). A inclusão destas zonas na prática clínica moderna reflete a versatilidade da BoNT, que, quando utilizada com rigor anatómico e técnico, permite uma abordagem estética global, segura e personalizada (Gart & Gutowski, 2015).

2.3 Estrutura Molecular e Serótipos

A BoNT é reconhecida como a neurotoxina natural mais potente conhecida até à data e a sua complexidade estrutural está na base da sua potente especificidade molecular (Kumar & Singh, 2025). Do ponto de vista bioquímico, a BoNT é composta por uma cadeia polipeptídica de 150 kDa que, após processamento, resulta em duas cadeias: uma cadeia

pesada (100 kDa) e uma cadeia leve (50 kDa), ligadas por pontes dissulfureto cuja integridade é imprescindível para o efeito biológico (Swaminathan & Eswaramoorthy, 2001; Hirai, 2011). A cadeia pesada é composta por dois domínios: o domínio de ligação (HC), localizado na extremidade C-terminal, responsável pelo reconhecimento de recetores específicos na membrana pré-sináptica de neurónios colinérgicos, e o domínio de translocação (HN), localizado na extremidade N-terminal, cuja função primordial é facilitar a passagem da cadeia leve para o citosol neuronal (Popoff et al., 2001).

A cadeia leve atua como uma endopeptidase dependente de zinco (Zn^{2+}), com função catalítica específica de clivagem de proteínas do complexo SNARE, determinantes para a libertação de acetilcolina (Monash et al., 2025). Esta configuração permite à toxina modular eficientemente a neurotransmissão, pela capacidade de inibir de forma localizada e controlada a libertação do neurotransmissor em terminais (Monash et al., 2025).

Identificam-se, até ao presente, oito serótipos principais de BoNT (A–H), sendo que sete (A–G) têm relevância toxicológica e clínica, cada um apresentando especificidade para diferentes proteínas do complexo (Almeida et al., 2022; Shikhkerimov & Istomina, 2022). Entre estes, o serótipo A (BoNT/A) é o mais utilizado na prática clínica e estética, devido à sua maior potência, duração de ação prolongada, previsibilidade e perfil de segurança favorável (Almeida et al., 2022). As diferentes formulações comerciais de BoNT/A, como OnabotulinumtoxinA (Botox®), AbobotulinumtoxinA (Dysport®) e IncobotulinumtoxinA (Xeomin®), distinguem-se pela estrutura molecular, composição das proteínas acessórias e concentração da neurotoxina ativa, fatores que influenciam a biodisponibilidade, difusão tecidual e imunogenicidade (Kukreja & Singh, 2015).

Os complexos proteicos formados podem atingir pesos moleculares superiores a 750 kDa, devido à associação da neurotoxina a proteínas não tóxicas (NAPs), responsáveis pela estabilidade e proteção da molécula antes da internalização neuronal (Dressler et al., 2005; Sposito, 2009; Souza et al., 2020).

2.3.1 Mecanismo de Ação e Papel das Proteínas Complexas

O mecanismo de ação da BoNT é um processo altamente específico e composto por múltiplas etapas, explicando quer a eficácia clínica (em diversas indicações) quer o excelente perfil de segurança observado quando administrada por profissionais habilitados (Brin & Burstein, 2023).

Após administração local, a toxina liga-se com elevada afinidade a recetores da membrana pré-sináptica (ex: SV2, GT1b), por ação do domínio HC da cadeia pesada, processo marcadamente seletivo por terminais colinérgicos (Dolly & Lawrence, 2014; Monash et al., 2025).

Esta ligação é seguida de endocitose mediada por recetor, com entrada da toxina em endossomas neuronais (Ayyar et al., 2015).

A acidificação do endossoma provoca uma alteração conformacional no domínio HN da cadeia pesada, permitindo a formação de um canal de translocação através do qual a cadeia leve é libertada para o citosol (Fischer, 2012).

No citosol neuronal, a cadeia leve atua como metaloproteinase dependente de zinco (Zn^{2+}): cliva proteínas específicas do complexo SNARE, bloqueando a exocitose de acetilcolina, passo final e crítico para a transmissão neuromuscular (Monash et al., 2025; Duplantier et al., 2016).

Diferentes serótipos apresentam especificidade para diferentes componentes SNARE:

- BoNT/A e BoNT/E clivam a proteína SNAP-25;
- BoNT/B, D, F e G clivam a sinaptobrevina (VAMP);
- BoNT/C cliva a SNAP-25 e a syntaxina (Zanetti et al., 2017; Vaidyanathan et al., 1999; Washbourne et al., 1998).

O bloqueio da libertação de acetilcolina induz, no local da administração, uma paralisia muscular flácida e transitória, sendo este efeito reversível através do processo de “*sprouting*” axonal colateral e da síntese de novas proteínas do complexo SNARE (Lagueny & Burbaud, 1996). A maior duração e eficácia do bloqueio neuromuscular observa-se em pacientes jovens do sexo feminino, em músculos de menor espessura e quando são aplicadas técnicas de injeção otimizadas e precisas (Karp et al., 1994).

Para além da junção neuromuscular, a inibição da libertação de acetilcolina nas terminações colinérgicas das glândulas sudoríparas explica a sua utilização terapêutica em casos de hiperidrose, uma das aplicações não estéticas mais consolidadas da toxina (Mehta & Nagar, 2024).

As proteínas complexantes, também conhecidas como NAPs, desempenham um papel protetor da neurotoxina face à degradação enzimática e conferem estabilidade ao complexo proteico durante a sua produção natural pelo *Clostridium botulinum* (Singh et al., 2015). Esta função é essencial no contexto do botulismo alimentar, onde as NAPs impedem a destruição da toxina no trato gastrointestinal (Gu & Jin, 2012). Contudo, nas formulações farmacêuticas injetáveis utilizadas clinicamente, estas proteínas tornam-se dispensáveis, visto que a toxina é administrada diretamente no tecido-alvo, sem exposição ao meio entérico (Gu & Jin, 2012).

De modo geral, a BoNT/A apresenta um perfil clínico altamente previsível, com início de ação entre o 3.º e o 5.º dia, pico máximo entre o 10.º e o 14.º dia, e duração média de 3 a 6 meses (Schroeder et al., 2010). Ensaios clínicos multicêntricos relatam taxas de satisfação superiores a 80%, reforçando a consistência dos resultados e o seu excelente perfil de segurança quando utilizada por profissionais qualificados (Francisco et al., 2020). Os efeitos adversos são, na maioria, locais e autolimitados, sendo extremamente raras as complicações sistémicas (Banach et al., 2025).

2.3.2 Técnicas Avançadas e Aplicações Emergentes

A constante evolução das aplicações estéticas da BoNT/A tem conduzido ao desenvolvimento de técnicas mais precisas e individualizadas, capazes de proporcionar resultados naturais e equilibrados, sem comprometer a expressividade facial (Gothe, 2024). Estas abordagens refletem uma tendência crescente para procedimentos minimamente invasivos, adaptados às características anatómicas e funcionais de cada paciente (Gothe, 2024).

Entre as principais técnicas emergentes destacam-se o Microbotox, o Baby Botox e o botox intradérmico, que se diferenciam sobretudo pela diluição da toxina, profundidade de injeção e objetivo terapêutico (Kandhari et al., 2022).

O botox intradérmico combina a BoNT com substâncias bioativas, como ácido hialurónico, vitaminas ou aminoácidos, promovendo simultaneamente a modulação muscular e a revitalização cutânea (El Bedewi, 2012; Salem et al., 2024). Esta técnica híbrida procura melhorar a firmeza, hidratação e qualidade da pele, associando os

benefícios neuromoduladores da BoNT/A a efeitos de regeneração dérmica (El Bedewi, 2012; Salem et al., 2024).

O Microbotox consiste na administração de uma solução altamente diluída de BoNT/A na derme superficial, atuando sobre as fibras musculares finas e sobre as glândulas sebáceas (Wu, 2015). O seu efeito resulta numa melhoria da textura e luminosidade da pele, redução da oleosidade e suavização das rugas finas, sendo frequentemente utilizado em protocolos de rejuvenescimento global cutâneo (Wu, 2015; Kerber et al., 2025).

O Baby Botox, por sua vez, recorre a doses menores da toxina distribuídas em múltiplos pontos, com o objetivo de atenuar as rugas dinâmicas preservando a mobilidade e naturalidade das expressões faciais (Freitas et al., 2025). Esta técnica tem ganho destaque em adultos jovens, tanto pela sua função corretiva como preventiva, integrando-se na abordagem conhecida como *prejuvenation* (Freitas et al., 2025).

Estas variações técnicas representam uma evolução significativa no campo da medicina estética, ao aliarem segurança, personalização e naturalidade dos resultados (Vargas-Laguna et al., 2024). A escolha da técnica deve sempre basear-se no conhecimento anatómico detalhado, na compreensão da farmacodinâmica da toxina e na experiência clínica do profissional, assegurando eficácia e previsibilidade terapêutica (Vargas-Laguna et al., 2024).

3. Protocolo de Aplicação e Técnica

3.1 Seleção dos Pontos de Injeção

Um dos fatores mais importantes para o sucesso clínico e segurança na aplicação da BoNT é a seleção dos pontos de injeção, e depende de um conhecimento anatômico detalhado, reconhecimento das estruturas alvo e adaptação à morfologia e necessidades de cada paciente (Kim et al., 2021).

Para que seja feita uma correta decisão dos locais de administração deve-se basear na avaliação das linhas de expressão, padrão muscular e risco de difusão uma vez que estes parâmetros influenciam diretamente a eficácia, a simetria e minimizam possíveis complicações do procedimento (Avé, 2019).

Princípios gerais para seleção dos pontos de injeção

- **Avaliação facial individualizada:** inicia-se o plano de tratamento com uma análise funcional da mimica facial, observação das linhas dinâmicas e simulando as expressões para identificar os músculos responsáveis pelas rugas alvo (Le Louarn, 2004).
- **Mapeamento anatômico:** de forma a posicionar corretamente cada ponto de injeção e minimizar riscos locais são utilizadas referencias anatômicas, como distância em mm/cm de estruturas ósteo-cutâneas, marcos vasculares e nervosos (Hu et al., 2024).
- **Distribuição multidirecional:** a toxina deve ser aplicada em vários pontos com pequenas doses e distribuídas de forma a garantir um resultado homogêneo e natural (Burshtein & Burshtein, 2025).
- **Profundidade da injeção:** é definida consoante o musculo alvo, intramuscular profunda para músculos mais volumosos (frontal, corrugador, masseter), mais superficial ou intradérmica em técnicas como microbotox e em músculos peribucais ou orbiculares (Kaplan, 2017).
- **Precauções técnicas:** devem ser evitados pontos próximos a estruturas sensíveis, como margem orbitária ou principais trajetos vasculares. A dispersão excessiva da toxina pode resultar em ptose palpebral, diplopia, assimetrias ou alterações funcionais indesejadas (Cechanovičiūtė, 2024).

3.2 Áreas de Aplicação

Complexo glabellar

Recomendações:

- › A seringa deve de ser colocada perpendicularmente ao plano de aplicação;
- › De modo a evitar a aplicação no musculo frontal a administração deve de ser feita ao nível do periósteo;
- › Deve de ser administrado 2U a 4U por ponto de aplicação (Total de 10-20U) (Silva, 2011).

Aplicação:

Normalmente são usados cinco pontos de injeção em formato de “V”, o profissional define a posição exata dos pontos de acordo com as características e necessidades de cada paciente.

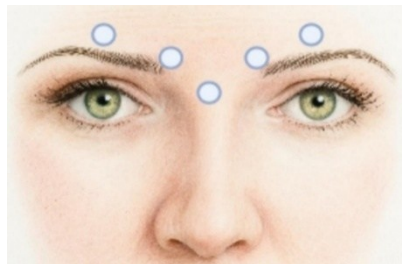


Figura 2- Pontos de aplicação para o tratamento do Complexo glabellar (elaborada pelo autor, 2025).

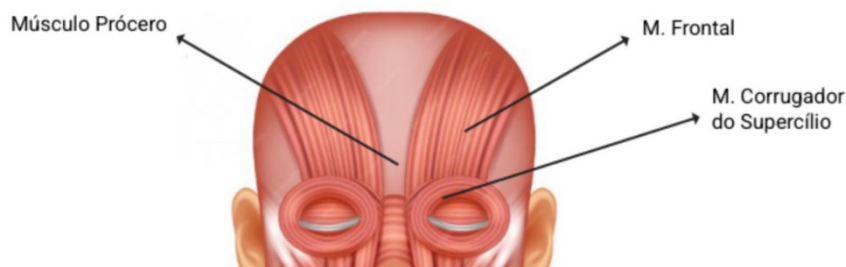


Figura 3- Músculos do Complexo Glabellar (elaborada pelo autor, 2025).

É fundamental o conhecimento anatómico do músculo para que haja uma correta aplicação da BoNT. Na **figura 2** estão marcados os sítios corretos de aplicação da toxina, proporcionando assim um tratamento adequado, para obtenção de bons resultados (Silva, 2011).

Região Periorbital “Pés de galinha”

Recomendações:

- › A agulha desse ser inserida a aproximadamente 45° em relação à superfície cutânea
- › O periósteo não deve ser utilizado como referência anatômica nesta região
- › Recomenda-se uma ligeira massagem após a aplicação para promover a uniformidade da difusão (Silva, 2011).

Aplicação:

- › Usa-se 3 pontos de aplicação normalmente, na zona dos “Pés de galinha”, com a distância de 1 cm entre eles.
- › Em pacientes com rugas infraorbitais proeminentes ou pele fina, podem ser aplicados apenas 2 pontos de aplicação (Silva, 2011).

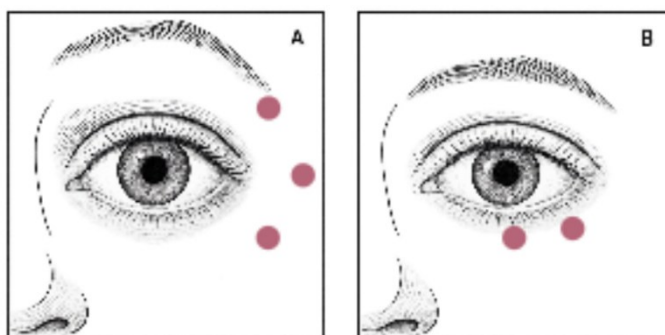


Figura 4- Pontos de aplicação no tratamento dos pés de galinha (elaborada pelo autor, 2025).

(A) Os 3 pontos de aplicação no tratamento dos “pés de galinha”; (B) Aplicação suplementar para pacientes com rugas infra orbitais proeminentes, utilizando-se 2 pontos

O músculo de maior relevância no tratamento desta região é o orbicular do olho (Silva, 2011). A aplicação da toxina nos pontos indicados na **figura 4** permite a atenuação seletiva dessa contração, resultando numa aparência mais suave e natural da região periorbital (Silva, 2011).

Linhas de Coelho “Bunny Lines”

Aplicação e recomendações:

- › Administrar entre 2 a 5 unidades, distribuídas de forma equilibrada por cada lado;
- › A injeção deve ser feita no músculo nasal, com o objetivo de reduzir a sua contração;
- › Além disso, pode ser aplicado um ponto de injeção na linha média e um ponto adicional em cada lado (Silva, 2011).

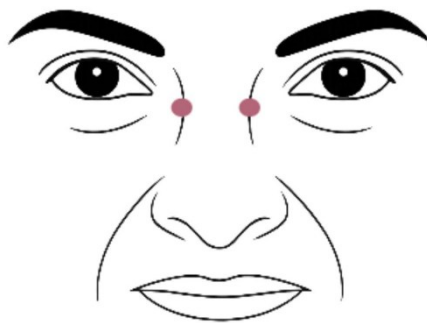


Figura 5- Pontos de aplicação para as linhas de “coelho” (elaborada pelo autor, 2025).

O tratamento geralmente é feito com duas injeções uma em cada lado do músculo nasal como apresentado na **figura 5** pode-se ainda adicionar uma aplicação na região média do músculo, de forma a potenciar a eficácia do procedimento (Silva, 2011).

Elevação da Sobrancelha

Recomendações:

Tem de se ter em conta as zonas de risco respeitando os locais corretos de aplicação (Silva, 2011).

Aplicação:

Normalmente usam se 4 pontos de aplicação

Além destes pontos, é também realizado o tratamento na região do complexo glabellar, o que contribui para o enfraquecimento dos músculos depressores da sobrancelha (Silva, 2011).

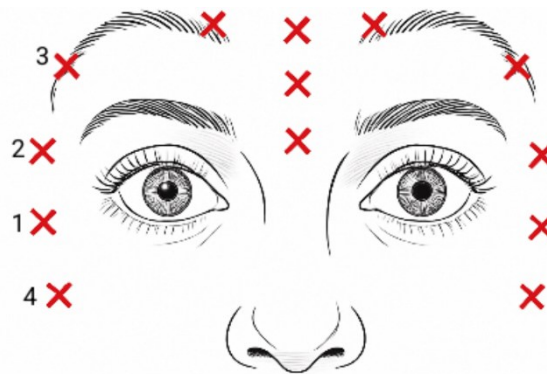


Figura 6- Pontos de aplicação no tratamento da elevação da sobrancelha (1,2,3,4), tendo como tratamento adjuvante o aplicado no complexo glabellar (elaborada pelo autor, 2025).

Testa: Linhas horizontais de expressão

Recomendações:

- › Solicitar ao paciente que eleve as sobrancelhas, de modo a evidenciar as linhas formadas pelo músculo frontal;
- › Evitar a aplicação na região latero-inferior da testa;
- › Preservar parcialmente a atividade do músculo frontal, prevenindo a migração da toxina e o risco de ptose palpebral;
- › Priorizar a aplicação na região central da testa, uma vez que falhas nesta área podem resultar em movimentos pouco naturais da sobrancelha;
- › Tratar também a região lateral do músculo, prevenindo que apenas a porção lateral da sobrancelha se eleve, evitando assim o chamado “aspecto Jack Nicholson” (Silva, 2011).

Aplicação:

- › Normalmente, utilizam-se entre 6 e 8 pontos de aplicação;
- › Os pontos devem ser posicionados pelo menos 1 cm acima das sobrancelhas, localizando-se acima da primeira linha horizontal da testa (Silva, 2011).

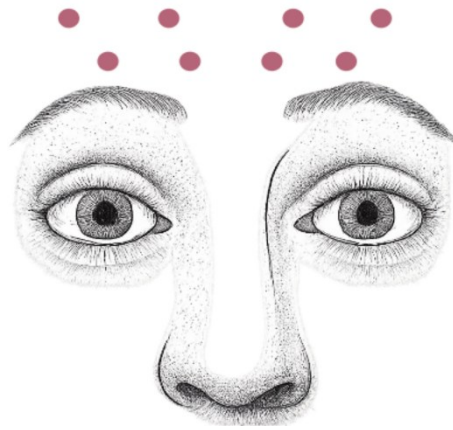


Figura 7- Pontos de aplicação para reduzir a contração do músculo frontal e eliminar as linhas horizontais da testa (elaborada pelo autor, 2025).

A BoNT deve de ser aplicada nos pontos situados ao longo do músculo frontal como mostra na **figura 7**.

A aplicação deve de privilegiar a região central da testa, evitando assim falhas nesta área que podem gerar movimentos pouco naturais das sobrancelhas (Silva, 2011).

Parte superior do Lábio

Recomendações:

- › Pode ser utilizado o EMG para auxiliar na localização do músculo, devendo ser usado apenas quando o único músculo a tratar for o orbicular da boca;
- › A paralisação do músculo não deve ser total, pois isso pode comprometer a articulação da fala (Silva, 2011).

Aplicação:

- As técnicas podem variar, mas geralmente realizam-se 3 a 4 pontos de aplicação, situados cerca de 5 mm acima do lábio superior (Silva, 2011).



Figura 8- Pontos de tratamento das rugas peribucais do lábio superior e do lábio inferior (elaborada pelo autor, 2025).

A aplicação da BoNT no músculo orbicular dos lábios é feita como indicado na **figura 8** (Silva, 2011).

Sorriso Gengival “Gummy Smile”

Recomendações/Aplicação:

- A dose total, entre 2 e 4 unidades, deve ser dividida igualmente entre os dois lados (Silva, 2011).

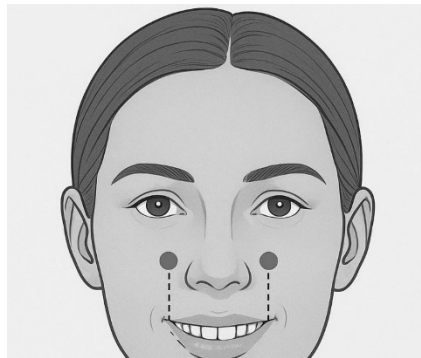


Figura 9- Pontos de aplicação (elaborada pelo autor, 2025).



Figura 10- Ilustração do chamado sorriso gengival: o antes e o após da aplicação da Toxina Botulínica (elaborada pelo autor, 2025).

Na **figura 10** observa-se o efeito antes e depois do tratamento, evidenciando a suavização do lábio superior (Silva, 2011).

Zona do Mentoniano (queixo)

Recomendações/Aplicação:

- A margem de segurança nesta região é reduzida, devido a proximidade de estruturas neuromusculares importantes e à proximidade do plano ósseo, exigindo assim cuidado redobrado durante a aplicação (Hong, 2023)

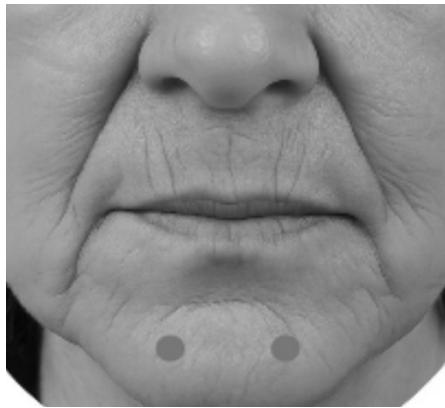


Figura 11 - Região do sulco mentolabial, pontos de aplicação (elaborada pelo autor, 2025).

É indicada a aplicação de BoNT em pontos específicos **figura 11** de forma a reduzir a tensão muscular (Silva, 2011).

Região do pescoço

Aplicações:

Alguns pacientes apresentam rugas horizontais proeminentes no pescoço (envelhecimento cutâneo), nestes casos, a BoNT deve ser aplicada ao longo das rugas horizontais, com intervalos de aproximadamente 1 cm, conforme ilustrado nas **Figura 12** (Silva, 2011).

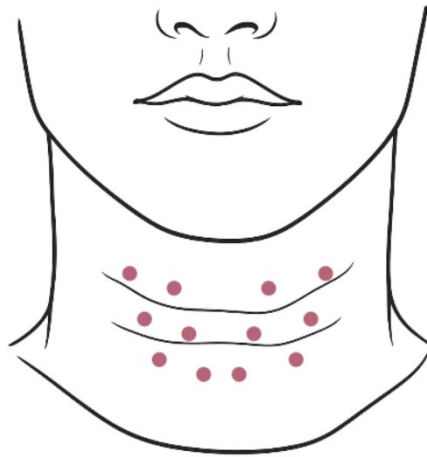


Figura 12 - Técnica para tratamento das rugas horizontais do pescoço (elaborada pelo autor, 2025).

Aplicações:

Em cada faixa vertical do pescoço, devem ser realizadas de 2 a 4 aplicações, mantendo aproximadamente 1 cm de distância entre cada aplicação, conforme ilustrado nas **Figura 13** (Silva, 2011).

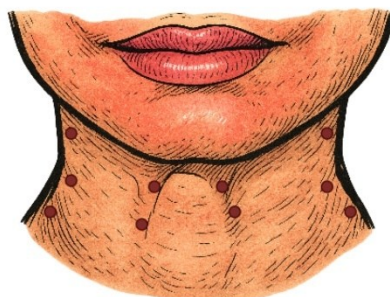


Figura 13- Zonas de aplicação da toxina (elaborada pelo autor, 2025).

3.3 Formulações, Diluições e Dosagem

Formulações Comerciais

A BoNT/A é a mais utilizada em medicina estética, existindo várias formulações aprovadas que diferem quanto à presença de proteínas complexantes, difusão tecidual, estabilidade, potência biológica e indicações clínicas (Kukreja & Singh, 2015; Carruthers et al., 2013).

Tabela 4 - Principais formulações comerciais de toxina botulínica tipo A, respetivos fabricantes e formas farmacêuticas

Substância ativa	Nome comercial	Fabricante	Unidades e forma farmacêutica
OnabotulinumtoxinA	Vistabel®	Allergan (AbbVie)	Frascos de 50U; pó liofilizado para solução injetável
AbobotulinumtoxinA	Azzalure®	Galderma/Ipsen	Frascos de 125U (unidades Speywood), pó liofilizado para solução injetável
IncobotulinumtoxinA	Bocouture®	Merz Pharmaceuticals GmbH	Frascos de 50U ou 100U, pó liofilizado para solução injetável
IncobotulinumtoxinA	Xeomin®	Merz Pharmaceuticals GmbH	Frascos de 50U, 100U ou 200U, pó liofilizado para solução injetável

(INFARMED, RCM Vistabel®, 2022; RCM Azzalure®, 2022; RCM Bocouture®, 2022; RCM Xeomin®. 2022).

- Daxxify™: É uma formulação inovadora. Embora aprovada pela FDA e pela EMA, a sua comercialização em Portugal ainda não se encontra estabelecida (Salame et al., 2024; Mussarat et al., 2023).

Diluições

A reconstituição da BoNT/A é realizada com solução salina a 0,9% sem conservantes, conforme descrito nos RCMs oficiais e na literatura. A escolha da diluição depende da área anatômica, técnica utilizada e grau de difusão desejado, sendo geralmente classificada como diluição seca ou diluição molhada (Anderson, 2004).

- Diluição seca: utiliza menor volume de solvente, resultando em maior concentração de toxina por unidade de volume. É indicada para áreas pequenas ou pontos de ação precisa, com menor difusão e risco reduzido de atingir músculos adjacentes (Hsu et al., 2004).
- Diluição molhada: usa maior volume de solvente, proporcionando maior dispersão e efeito mais suave e homogêneo em áreas amplas, como pescoço ou bandas platismais (Kaplan, 2016).

Para uso clínico, a reconstituição deve ser feita lentamente, evitando agitação vigorosa, de modo a preservar a estrutura da neurotoxina (Dressler & Bigalke, 2016).

Aspetos práticos

A titulação da dose, escolha da formulação e o volume a ser injetado devem ser individualizados, considerando anatomia, características do músculo, objetivo clínico e preferência pela naturalidade dos resultados (Anido et al., 2017). O uso de seringas graduadas de 1 mL permite precisão no volume injetado e minimiza desperdícios (Anido et al., 2017).

3.4 Normas de Conservação, Rastreabilidade e Farmacovigilância

Como já foi referido anteriormente é muito importante que haja rigor na conservação, rastreabilidade e farmacovigilância de modo a garantir a eficácia terapêutica da BoNT e a segurança do doente (Mehta & Nagar, 2024).

Conservação e Estabilidade

A BoNT é um produto biológico de elevada sensibilidade à temperatura (Küçüktürkmen & Bozkir, 2018). É obrigatória a manutenção da cadeia de frio em todo o circuito, desde a produção, ao armazenamento, ao transporte, até ao momento de administração (Küçüktürkmen & Bozkir, 2018). A maioria das formulações comerciais são fornecidas em pó liofilizado e devem ser conservadas a 2°C a 8°C antes da reconstituição (Haney, 2020).

Vários estudos indicam manutenção de potência até 4 semanas mantendo sempre o correto armazenamento refrigerado, embora seja ideal o uso até 4-24 horas após a preparação de maneira a minimizar riscos de degradação da proteína (Park et al., 2020).

Rastreabilidade farmacêutica

A rastreabilidade é a capacidade de identificar o percurso, lote e histórico de cada unidade da BoNT utilizada, garantindo sempre transparência e possibilidade de ação rápida em caso de recall, falha terapêutica ou eventos adversos (Koning-Bastiaan, 2014).

Deve existir documentação completa de lote, validade, data e hora de preparação, identificação do aplicador, local anatómico de administração, dose, diluição, aparelho utilizado e consentimento informado do doente (Philipp-Dormston et al., 2022).

Estes registos devem ser arquivados por um período mínimo de cinco anos. (Mosedale & Harris, 2023).

Farmacovigilância

A farmacovigilância desempenha um papel central na utilização segura da BoNT, assegurando que os benefícios clínicos se mantêm superiores aos potenciais riscos (Gothe, 2024; Gouraud, 2024). O acompanhamento contínuo dos efeitos associados a este fármaco permite identificar precocemente padrões de eventos adversos, atualizar o perfil benefício-risco e reforçar a segurança da prática clínica (Gothe, 2024; Gouraud, 2024).

Para além de contribuir para a revisão periódica das informações técnicas e das recomendações clínicas, a farmacovigilância possibilita também a emissão de alertas de

segurança e a realização de campanhas educativas direcionadas tanto a profissionais como a doentes (Queneau et al., 2011).

4. Avaliação da Eficácia

4.1 Parâmetros Objetivos e Subjetivos de Avaliação

A avaliação da eficácia da BoNT combina métodos objetivos e subjetivos, de modo a integrar parâmetros clínicos, funcionais e psicossociais (Yoshida, 2022).

4.1.1 Parâmetros objetivos de avaliação

Consistem em medições padronizadas, reprodutíveis e quantificáveis que permitem avaliar o efeito clínico da BoNT, sendo adaptados de acordo com o contexto terapêutico ou estético (*Evaluation Methods*, n.d.).

- **Escalas Clínicas:**

- **Escala Modificada de Ashworth (Modified Ashworth Scale – MAS):** utilizada principalmente em contextos neurológicos para quantificação da espasticidade, classificando o aumento do tônus muscular entre 0 (ausência de espasticidade) e 4 (rigidez extrema, sem mobilidade passiva possível). Esta escala é fundamental para monitorizar a resposta terapêutica em pacientes com patologias motoras que beneficiam da injeção de BoNT (Harb & Kishner, 2020; 中山 et al., 2004).
- **Escala de Avaliação Global do Investigador (PGA):** não mede diretamente a eficácia do tratamento, mas sim o estado atual da condição do paciente, permitindo acompanhar a sua evolução ao longo do tempo. Normalmente, a PGA utiliza uma escala ordinal de 5 pontos, que classifica a doença em: 0 – Claro, 1 – Quase claro, 2 – Ligeiro, 3 – Moderado, e 4 – Grave (Pascoe et al., 2015).
- **Escalas estéticas específicas:** incluem instrumentos validados como a GLSS, dirigida à avaliação da severidade das rugas glabellares, e a *Facial Wrinkle Scale*, utilizada para rugas faciais em diferentes regiões (Muñoz-Lora et al., 2025; “The Use of Validated Visual Scales in Plastic Surgery: Where Are We Now?,” 2022). Frequentemente, estas escalas são associadas a análises fotográficas padronizadas antes e depois da intervenção, a fim de conferir maior objetividade à avaliação (Carruthers & Carruthers, 2010).

4.1.2 Parâmetros Subjetivos de Avaliação

Os parâmetros subjetivos têm como objetivo perceber o impacto do tratamento com a toxina na aparência, auto-estima, funcionalidade e qualidade de vida do ponto de vista do doente. Com intuito de completar as medicas objetivas, estas fornecem uma visão mais abrangente da eficácia terapêutica, não só em termos de desfechos clínicos, mas também sobre os ganhos psicossociais e de bem-estar (Kako et al., 2021).

- **Questionários de Qualidade de Vida:**

- O **Dermatology Life Quality Index (DLQI)**: é utilizado na dermatologia e na cosmetologia com o objetivo de avaliar o impacto das alterações da pele e dos tratamentos estéticos sobre a qualidade de vida como autoestima, convívio social e desempenho profissional (Chernyshov, 2019).

- **Escalas de Satisfação e Autoavaliação:**

- Os **questionários visuais analógicos (EVA)**, variando de 0 (nenhuma satisfação) a 10 (satisfação máxima), quantificando assim com ferramentas simples a satisfação geral do paciente e a correspondência das expetativas após o tratamento (Bellini et al., 2009).
- **Facial Line Treatment Satisfaction Questionnaire (FTS-Q)**, desenvolvido para avaliar de forma sistemática a satisfação dos pacientes nos tratamentos de linhas faciais, utilizando instrumentos específicos e capazes de detetar de forma precisa as mudanças decorrentes dos procedimentos estéticos (Iozzo et al., 2014). Ao contrário de medidas genéricas de qualidade de vida como no DLQI, o FTS-Q centra-se em aspetos psicométricos relacionados diretamente com resultados cosméticos, permitindo assim captar variações subtis na perceção de eficácia, impacto estético e satisfação global (Iozzo et al., 2014).

A combinação destes instrumentos subjetivos com os parâmetros objetivos permite uma avaliação mais completa da eficácia do tratamento, reunindo não só os resultados clínicos mensuráveis, mas também a perceção individual do paciente quanto aos benefícios

alcançados (Roposch, 2005). Este equilíbrio é fundamental para determinar o sucesso global da intervenção e o nível de satisfação obtido (Roposch, 2005).

4.2 Evidência Clínica e Fotografias Comparativas

4.2.1 Evidência Clínica

Estudos de revisão e ensaios multicêntricos, alguns com acompanhamento prolongado de casos, mostram que a BoNT demonstra de forma consistente melhoria significativa nas linhas de expressão, rugas dinâmicas e na harmonia facial (Rappl et al., 2019). Esses resultados têm sido confirmados tanto por avaliações padronizadas como por medidas objetivas e relatos subjetivos de satisfação (Rappl et al., 2019).

A literatura evidencia taxas de satisfação superiores a 85%, com impacto positivo na auto-estima, função social e imagem corporal, tanto em procedimentos faciais quanto em indicações terapêuticas (Smit et al., 2021). Estudos de longo prazo, técnicas bem padronizadas com doses menores e protocolos individualizados apresentam resultados comparáveis ou superiores aos de uso de maiores quantidades do produto, um dado relevante para minimização do risco de imunogenicidade e custos (Frevert, 2015).

4.2.2 Fotografias Comparativas

A utilização de fotografias (antes e depois) é essencial para a avaliação e documentação dos resultados clínicos da BoNT (Heckmann & Schön-Hupka, 2001). É recomendado o uso de protocolos definidos, garantindo assim consistência de pose, iluminação, distância e expressão facial (normal, contraída, repouso) (Heckmann & Schön-Hupka, 2001).

Estas imagens são avaliadas utilizando escalas validadas e avaliação às cegas quando possível. Estudos demonstram elevada concordância entre a análise clínica, escalas subjetivas do paciente e avaliação fotográfica (Gothe, 2024). As fotografias comparativas devem ser anexadas ao prontuário, associadas à ficha técnica do procedimento e observações clínicas, garantindo assim rastreabilidade ética e proteção jurídica do profissional e do doente (Gothe, 2024).

5. Segurança e Complicações

5.1 Perfil de Segurança

Como já referido anteriormente a BoNT/A apresenta um dos perfis de segurança mais favoráveis entre os agentes farmacológicos utilizados em medicina estética e terapêutica (Cechanovičiūtė, 2024). O elevado rigor técnico, associado ao cumprimento das boas práticas clínicas e ainda aliado à elevada seletividade farmacológica, contribui para que a ocorrência de complicações graves seja extremamente baixa, havendo maioritariamente efeitos adversos leves e transitórios (Cechanovičiūtė, 2024).

Complicações Comuns e Reações Adversas Locais

As complicações comuns associadas à aplicação da BoNT/A, correspondem na sua maioria a reações locais e autolimitadas, estes efeitos estão relacionados com o procedimento de injeção, com a difusão da substância para músculos adjacentes ou a particularidades anatómicas do próprio doente (Cechanovičiūtė, 2024). Embora sejam reações que ocorrem com elevada frequência, raramente comprometem a segurança do tratamento ou a satisfação global, pois resolvem-se espontaneamente em poucos dias ou semanas (Szwed et al., 2022).

- **Dor, edema, eritema e equimose:** resultam do trauma físico provocado pela agulha e são os efeitos adversos mais frequentemente reportados. Apresentam carácter transitório, desaparecendo em poucos dias sem necessidade de intervenção (Florin & Haiavy, 2018).
- **Cefaleia ligeira:** ocorre em alguns pacientes nas primeiras 24–48 horas após a injeção. É geralmente autolimitada ou facilmente controlada com analgésicos de primeira linha (Alam et al., 2002).
- **Ptose palpebral:** é a complicação local mais frequentemente observada, com incidência estimada em cerca de 2,5% dos casos, ocorre principalmente após injeções na região frontal, quando há difusão não intencional da toxina para o músculo levantador da pálpebra superior. A reversão é espontânea e ocorre, geralmente, entre 2 e 6 semanas após o aparecimento dos sintomas (Lomeli & Mercado, 2016).

- **Assimetrias faciais:** frequentemente relacionadas com técnica inadequada ou distribuição incorreta da dose, ocorrem em músculos faciais com funções assimétricas, podendo comprometer a harmonia estética (Cechanovičiūtė, 2024).
- **Lagofthalmia, ectrópio e xeroftalmia:** podem surgir após aplicações na região periocular e resultam do relaxamento excessivo do músculo orbicular dos olhos. Esta condição pode levar a fecho palpebral incompleto (lagofthalmia) e, em alguns casos, à eversão da pálpebra inferior (ectrópio), o que aumenta a exposição do globo ocular e pode provocar sensação de secura e irritação ocular (xeroftalmia) (Ho et al., 2019).
- **Infeções locais:** são menos frequentes e geralmente associados a falhas de técnica asséptica ou manipulação inadequada da toxina (Pham & Perry, 2009).

Complicações Graves e Sistémicas

Apesar de ser seguro o uso da BoNT/A em contextos estéticos e terapêuticos, podem existir complicações de natureza rara e até potencialmente graves, a ocorrência destas complicações depende de fatores técnicos, características individuais do paciente e condições de uso (dos Reis et al., 2024). Estas situações costumam ocorrer principalmente quando se utilizam doses elevadas, técnicas inadequadas, difusão inapropriada ou utilização de produtos não certificados (dos Reis et al., 2024).

- **Botulismo iatrogénico:** corresponde a uma complicação rara, resultante da disseminação sistémica da toxina (Ibatullin & Magjanov, 2018; Eser et al., 2024). Está geralmente associado a sobredosagens, falhas técnicas ou ao uso de produtos adulterados (Ibatullin & Magjanov, 2018; Eser et al., 2024). Clinicamente, manifesta-se por fraqueza muscular progressiva, dificuldade em engolir e falar e, em situações graves, por insuficiência respiratória com risco de vida (Ibatullin & Magjanov, 2018; Eser et al., 2024). Na literatura internacional, são descritos apenas casos isolados, demonstrando tratar-se de uma complicação excecional quando as boas práticas são devidamente respeitadas (Ibatullin & Magjanov, 2018; Eser et al., 2024).

- **Fraqueza muscular difusa e manifestações neurológicas:** incluem diplopia, paralisia de nervos cranianos e disartria, geralmente reversíveis, mas clinicamente relevantes (Lentz & Weingrow, 2018). São mais reportadas em contextos terapêuticos com doses elevadas (Lentz & Weingrow, 2018).
- **Dificuldade respiratória e insuficiência ventilatória:** complicações extremamente raras relacionadas com disseminação sistêmica descuidada da toxina, exigindo intervenção médica imediata (Gothe, 2024).
- **Imunogenicidade e resistência secundária:** resulta do desenvolvimento de anticorpos neutralizantes contra a toxina, levando à perda de eficácia. Embora rara em uso estético, pode surgir em tratamentos repetidos, intervalos curtos ou uso cumulativo de altas doses, especialmente em formulações com proteínas complexantes (Ghulamghash, 2025).
- **Reações alérgicas e hipersensibilidade:** incluem urticária, edema e, em casos excepcionais, anafilaxia ou choque anafilático (Nicoletti et al., 2023).
- **Complicações oculares severas:** embora incomuns, a difusão acidental para músculos oculomotores pode resultar em diplopia persistente, ptose prolongada ou, raramente, em perda visual (Khan et al., 2023).
- **Infeções cutâneas graves:** como abscessos, celulite facial ou necrose cutânea, geralmente associadas a falhas de assepsia, uso de produtos contaminados ou adulterados (Landau et al., 2024).
- **Eventos graves em populações de risco:** incluem crises miasténicas, agravamento de doenças neuromusculares pré-existentes. A seleção criteriosa dos pacientes é essencial para prevenir estas complicações (Yiannakopoulou, 2015).

Principais fatores de Risco

- Erro de técnica ou desconhecimento anatômico do profissional;
- Doses excessivas ou diluição inadequada;
- Falhas de assepsia e antisepsia;
- Uso de produtos não certificados ou falsificados;

- Condições clínicas do paciente;
- Uso off-label, múltiplos pontos de aplicação ou áreas corporais extensas;
- Intervalos curtos entre aplicações e tratamentos cumulativos;
- Falta de rastreabilidade, consentimento informado e cumprimento de protocolos de farmacovigilância (dos Reis et al., 2024; Bombonato et al., 2025).

As complicações raras e graves podem, na sua maioria, ser evitadas quando se respeitam as normas técnicas e regulatórias, o que reforça o elevado perfil de segurança da BoNT sempre que é utilizada de acordo com as boas práticas clínicas (Jamaluddin et al., 2025).

5.2 Contraindicações

As contraindicações ao uso da BoNT/A podem ser classificadas em absolutas e relativas (Kehayova et al., 2025). As contraindicações absolutas estão presentes nas informações técnicas oficiais provadas por entidades reguladoras internacionais e refletem riscos clínicos (Kehayova et al., 2025). Já as contraindicações relativas são abordadas em consenso científico e literatura especializada, devendo sempre ser ponderadas caso a caso (Kehayova et al., 2025).

Contraindicações absolutas:

- **Doenças neuromusculares ou da junção neuromuscular:** miastenia gravis, síndrome de Lambert-Eaton, esclerose lateral amiotrófica (ELA) e outras (DeLisser, 2006). Estes doentes apresentam risco aumentado de fraqueza muscular difusa, disfagia e insuficiência respiratória (DeLisser, 2006).
- **Reações alérgicas e hipersensibilidade conhecida:** com risco de urticária, edema ou anafilaxia (Nicoletti et al., 2023). Geralmente ligadas a excipientes da formulação (como albumina humana ou lactose) e não à neurotoxina pura, podendo envolver reação cruzada com a albumina humana (Nicoletti et al., 2023).

- **Gravidez e lactação:** a ausência de estudos de segurança controlados implica contraindicação formal, pelo risco potencial de efeitos adversos ao feto ou lactente (Cruz et al., 2020).
- **Infeção ativa ou inflamação no local da aplicação:** aumenta o risco de complicações locais e deve contraindicar temporariamente o procedimento até completa resolução do processo infeccioso (Curi et al., 2024).

Contraindicações relativas:

- **Uso concomitante de fármacos que interferem na transmissão neuromuscular,** aminoglicósidos (gentamicina, tobramicina), bloqueadores neuromusculares e alguns antibióticos, que podem potenciar os efeitos da toxina (Kehayova et al., 2025).
- **Coagulopatias ou uso de anticoagulantes sem monitorização adequada,** aumentando o risco de hematomas no local da injeção, especialmente em uso de varfarina, heparina ou anticoagulantes diretos (dos Reis et al., 2024).
- **Idade extrema:** em crianças pequenas e idosos acima de 75 anos, a relação benefício-risco deve ser cuidadosamente avaliada (Cheng, 2007).
- **Doenças psiquiátricas não controladas ou expectativas irreais,** como distúrbios da percepção de imagem corporal, que podem comprometer a satisfação com o procedimento (Stoleriu et al., 2025).
- **Histórico prévio de reação adversa grave à toxina,** repetição está formalmente contraindicada devido ao risco de hipersensibilidade cumulativa ou resposta imunogénica exacerbada (Ghalamghash, 2025).

5.3 Normas dos Órgãos Reguladores e Reporte Obrigatório

As normas definidas pelas autoridades competentes do medicamento, como o INFARMED, a EMA e a FDA, desempenham um papel central na utilização da BoNT/A assegurando a segurança do tratamento, a eficácia da farmacovigilância e a rastreabilidade em todo o circuito do medicamento, tanto em Portugal como no espaço

européu (Brin et al., 2014). Assentes na legislação nacional e comunitária, estas regras têm como objetivo principal proteger a saúde pública e garantir que a toxina seja utilizada de forma responsável e controlada, seja em contexto médico ou estético (Brin et al., 2014).

Legislação e Fiscalização

São exigidos rigorosos mecanismos de controlo, rastreabilidade e documentação clínica para a utilização da BoNT/A, estes mecanismos incluem:

- **Fiscalização e rastreabilidade** em todas as etapas, desde o fabrico, armazenamento e distribuição até à administração clínica, assegurando que apenas produtos certificados sejam utilizados, em conformidade com as BPF e BPD (Pickett, n.d.).
- **Registo obrigatório e padronizado de dados clínicos** como número de lote, validade, diluição, dose administrada, local anatómico de aplicação e identificação do profissional responsável, garantindo transparência e capacidade de auditoria em casos de falha terapêutica ou eventos adversos, em conformidade com as normas de farmacovigilância do INFARMED e as diretrizes da EMA (de Oliveira et al., 2025).
- **Documentação e conservação de registos clínicos**, prática destacada como indispensável para rastreabilidade, farmacovigilância e eventuais investigações clínicas ou legais, a conservação dos registos clínicos deve ter duração mínima de cinco anos (de Oliveira et al., 2025).

Notificação de Efeitos Adversos

Segundo a legislação nacional e europeia todos os eventos adversos relevantes devem de ser notificados, reações locais como edema, dor, ptose ou pequenas assimetrias e complicações sistémicas mais graves, como reações alérgicas intensas, casos de botulismo iatrogénico ou situações de perda de eficácia por imunogenicidade ou falhas de lote (Witmanowski & Błochowiak, 2020).

Em Portugal, esta obrigação encontra-se prevista no Decreto-Lei n.º 23/2025, de 19 de março, onde estabelece que a notificação deve ser feita ao INFARMED, através dos

sistemas oficiais de reporte, este procedimento integra-se no quadro europeu de farmacovigilância que é supervisionado pela EMA (“Farmacovigilância Em Portugal: 25 Anos,” 2019). Nestes registos deve conter dados essenciais, como a dose aplicada, a diluição, o local de injeção, o lote utilizado e a evolução clínica do doente, assegurando assim a rastreabilidade e a transparências do processo (“Farmacovigilância Em Portugal: 25 Anos,” 2019).

O cumprimento rigoroso destas normas é determinante para reforçar a segurança dos doentes, proteger os profissionais de saúde e consolidar a confiança na BoNT como ferramenta terapêutica e estética (Kehayova et al., 2025).

6. Perspetivas Futuras e Inovação

6.1 Novas Formulações Farmacêuticas

Nos últimos anos, as formulações da BoNT/A passaram por avanços significativos, visando garantir maior pureza, estabilidade e segurança na sua utilização clínica, procurando assim não só melhorar a eficácia terapêutica e estética, como também minimizar fenómenos de imunogenicidade e reações adversas (Carr et al., 2021).

Entre os principais avanços destacam-se:

- **IncobotulinumtoxinA (Xeomin®)**

Trata-se de uma formulação altamente purificada e sem proteínas complexantes, o que diminui o risco de desenvolver anticorpos (Hefter et al., 2020; Dressler, 2012). Esta característica torna-a particularmente indicada em tratamentos de longa duração ou em pacientes que já tiveram contacto prévio com a toxina, sendo uma opção eficaz nos casos em que ocorre resistência secundária (Hefter et al., 2020; Dressler, 2012). A ausência de proteínas complexantes reduz também o risco de reações cruzadas em tratamentos cumulativos prolongados (Hefter et al., 2020; Park et al., 2011; Dressler, 2012).

- **RelabotulinumtoxinA (Daxxify™)**

Por ser uma formulação líquida já pronta a usar, apresenta maior estabilidade molecular e evita a necessidade de manipulação antes da aplicação, o que reduz o risco de erros de diluição (Chao et al., 2022; Shridharani et al., 2024). Evidências recentes, demonstram que pode ter um efeito clínico mais duradouro, superior a 24 semanas, em comparação com as formulações tradicionais, permitindo intervalos maiores entre as aplicações conforme demonstrado em ensaios de fase III (Chao et al., 2022; Shridharani et al., 2024).

A escolha da formulação deve ter em consideração fatores como pureza, imunogenicidade, estabilidade e perfil farmacológico. Futuramente a tendência é procurar utilizar formulações com maior duração de efeito de ação, menor risco imunológico e maior praticidade clínica (Carr et al., 2021).

Serótipos e Variações Moleculares

De entre os vários serótipos (A-G) o mais utilizado é o serotipo A, devido à sua elevada potência, duração de ação prolongada e amplo historial de segurança (Almeida et al., 2022).

Para além dos serótipos naturais, têm sido investigadas variações moleculares e subtipos, que resultam de diferenças estruturais na cadeia pesada ou leve da toxina. Estas variações influenciam parâmetros como:

- Potência biológica,
- Difusão tecidual,
- Afinidade pelos recetores neuronais,
- Perfil de imunogenicidade (Dong & Stenmark, 2021).

Compreender estas diferenças é essencial para a individualização do tratamento, permitindo assim ajustar a escolha da formulação ao perfil clínico de cada paciente (Chen et al., 2012). Futuramente espera-se que novos serótipos recombinantes ou híbridos possam ser explorados aumentando a seletividade de ligação aos recetores neuronais e reduzindo a probabilidade de resistência imunológica (Chen et al., 2012).

Inovações Futuras

A investigação da BoNT/A continua em constante evolução, procurando desenvolver formulações mais modernas, com resultados mais duradouros e menor risco imunológico (Gothe, 2024; Kehayova et al., 2025). Estas inovações acompanham a crescente procura por tratamentos que sejam ao mesmo tempo eficazes, seguros e adaptados às necessidades individuais do doente, tanto no contexto estético como terapêutico (Gothe, 2024; Kehayova et al., 2025).

Entre as principais direções inovadoras destacam-se:

- **Formulações de longa duração**

Estudos recentes demonstram esforços no desenvolvimento de toxinas de ação prolongada, com intervalos terapêuticos superiores a seis meses, baseadas em

modificações estruturais na cadeia pesada da toxina, reduzindo a necessidade de reaplicações frequentes (Rasetti-Escargueil & Popoff, 2020; Borodic, 2009).

- **Tecnologias de estabilização e armazenamento**

Avanços no fabrico têm permitido a criação de formulações líquidas estáveis, eliminando a necessidade de reconstituição e reduzindo riscos associados a erros de diluição ou contaminação (Yim & Kim, 2017).

- **Toxinas recombinantes e bioengenharia**

Os avanços na bioengenharia têm permitido criar variantes da BoNT com características mais específicas, capazes de atuar de forma seletiva sobre recetores neuronais determinados e, ao mesmo tempo, limitar a difusão para tecidos vizinhos (Shikhkerimov & Istomina, 2022). Estas versões recombinantes representam uma evolução importante, pois podem oferecer maior segurança e eficácia, além de abrirem novas possibilidades de tratamento (Shikhkerimov & Istomina, 2022).

- **Combinações terapêuticas e multimodalidade**

A integração da BoNT com outros agentes, como preenchedores dérmicos (ácido hialurónico) ou biomateriais regenerativos (bioestimuladores de colagénio), tem sido investigada para promover resultados mais naturais, duradouros e multifuncionais em estética facial (Ghahamghash, 2025; Vale, 2023).

No futuro, prevê-se que a BoNT consolide o seu papel para além da estética, afirmando-se como um fármaco de aplicação terapêutica multidisciplinar, apoiado por formulações mais seguras, personalizadas e tecnologicamente otimizadas (Banach et al., 2025).

6.2 Perspetivas Futuras e Aplicações Emergentes

A BoNT/A mantém-se como referência central na medicina estética, com expectativas de ampliar significativamente o seu papel nas próximas décadas (Rohrich et al., 2003).

Atualmente, as pesquisas focam na otimização das técnicas de aplicação, assim como na compreensão da interação da toxina com diferentes tipos de pele, faixas etárias e padrões musculares, promovendo intervenções mais seguras e previsíveis (Gothe, 2024).

O futuro aponta para uma abordagem cada vez mais individualizada, centrada na personalização do tratamento conforme a morfologia facial e a mímica do paciente, equilibrando resultados clínicos com a preservação das expressões naturais (Wiest, 2009).

Há uma tendência crescente de associar a BoNT/A a tecnologias regenerativas, bioestimuladores, preenchedores e métodos de harmonização avançada, com potencial para resultados mais duradouros e melhoria global da qualidade cutânea (Ghalamghash, 2025).

Paralelamente, o desenvolvimento de novas formulações, com maior duração, menor difusão tecidual e baixa imunogenicidade, visa oferecer tratamentos mais estáveis e intervalos terapêuticos prolongados, reforçando a sustentabilidade clínica e estética (Ruegg & Waugh, 2016).

Emergem, assim, perspetivas de atuação preventiva e rejuvenescimento integrado, onde a BoNT/A deixa de ser apenas uma ferramenta para atenuação de rugas, passando a desempenhar um papel transversal em estratégias personalizadas e éticas, fundamentadas pelo conhecimento anatómico e clínico mais atualizado (Kehayova et al., 2025).

7. Discussão

7.1 Lacunas na Investigação e Limitações Atuais

Apesar do progresso notável no estudo da BoNT/A, vários aspetos ainda desafiam a comunidade científica e clínica, impedindo a definição de normas universalmente aceites para a sua prática em medicina (Rahman et al., 2022). Uma das principais lacunas reside na escassez de ensaios comparativos independentes que permitam avaliar de forma robusta as diferentes formulações comerciais do fármaco, tornando difícil estabelecer parâmetros consistentes de potência, biodisponibilidade, perfil de difusão, imunogenicidade e custo-benefício (*Botulinum Toxin Type A Immunogenicity across Multiple Indications: An Overview Systematic Review*, 2022; Rahman et al., 2022).

Esta incerteza faz com que uma parte significativa das decisões clínicas ainda resulte da experiência e formação do profissional, mais do que de consensos científicos bem estabelecidos (Gothe, 2024). Soma-se a isso a limitação dos estudos de seguimento a longo prazo: grande parte da literatura concentra-se no período de maior impacto estético, até seis meses após a aplicação, deixando em aberto a compreensão sobre a segurança cumulativa, persistência dos resultados, risco de imunogenicidade e efeitos sistémicos de longos anos de tratamentos (Rodrigues et al., 2024).

Outros entraves decorrem da subnotificação de efeitos adversos em clínicas não hospitalares, reduzindo a capacidade de identificação precoce de riscos e dificultando a credibilidade e robustez dos sistemas de farmacovigilância (Coté et al., 2005). A inexistência de protocolos de referência internacional limita a comparabilidade de estudos e cria entraves à elaboração de guidelines com validade global (Savkina et al., 2023).

Do ponto de vista farmacológico, a heterogeneidade das formulações (com diferentes excipientes e presença ou ausência de proteínas complexantes) e a falta de intercambialidade direta entre marcas coloca desafios à eficácia clínica, sobretudo entre profissionais com menor experiência, e pode aumentar o risco de insucesso terapêutico (Ferrari et al., 2018). Por sua vez, a ação da toxina, que se revela eficaz nas rugas dinâmicas, mas limitada em alterações estruturais profundas, reforça a importância das técnicas combinadas como resposta personalizada (Su et al., 2023).

Assim, o futuro da investigação deve assentar em ensaios comparativos randomizados com acompanhamento prolongado, na inclusão sistemática de grupos vulneráveis, na

padronização internacional dos protocolos e da notificação de eventos adversos, e numa avaliação rigorosa de novas abordagens, como microbotox, o botox intradérmico e o baby botox (Aoki, 2008).

Estas técnicas refletem uma tendência crescente para resultados mais naturais e personalizados, através da utilização de doses reduzidas, microinjeções e planos de aplicação mais superficiais, com o objetivo de preservar a mímica facial e promover uma aparência rejuvenescida, mas subtil (Arsiwala, 2015).

Contudo, apesar da sua popularidade crescente, estas abordagens ainda carecem de validação científica robusta quanto à eficácia, segurança cumulativa e padronização dos protocolos de aplicação, sendo essencial distinguir modas estéticas de práticas baseadas em evidência clínica (Freitas et al., 2025; Wu, 2015; Salem et al., 2024).

Deste modo, apenas um esforço conjunto entre farmacêuticos, dermatologistas, cirurgiões plásticos, investigadores e entidades reguladoras poderá assegurar uma evolução ética, sustentável e cientificamente fundamentada na utilização da BoNT/A em contexto estético (Aoki, 2008; Kehayova et al., 2025).

8. Conclusão

A BoNT/A tornou-se uma das substâncias mais importantes e seguras na medicina estética, graças ao seu mecanismo de ação preciso e aos avanços nas técnicas de aplicação (Gothe, 2024). O seu uso permite resultados eficazes e naturais, quando administrada por profissionais qualificados e com o devido controlo farmacêutico (Gothe, 2024).

O desenvolvimento de novas formulações e abordagens, como o microbotox e os tratamentos personalizados, ampliou as possibilidades clínicas, tornando os resultados mais previsíveis e adaptados a cada paciente (Rasetti-Escargueil & Palea, 2024). No entanto, continuam a existir desafios importantes, como a necessidade de mais estudos independentes, o reforço da farmacovigilância e a padronização das práticas entre diferentes marcas e profissionais (Gothe, 2024).

Também é essencial considerar os aspetos éticos e sociais associados à sua utilização, nomeadamente o uso precoce em pessoas jovens e a desigualdade de acesso aos tratamentos (Collier, 2013). O farmacêutico tem um papel fundamental em todo o processo, assegurando a qualidade, rastreabilidade e segurança do produto (Santini, 2008).

O futuro da BoNT/A dependerá do equilíbrio entre inovação, segurança e responsabilidade (Gothe, 2024). A continuidade da investigação científica e da formação especializada será essencial para que este tratamento se mantenha uma ferramenta eficaz e segura na melhoria da estética e da qualidade de vida dos pacientes (Gothe, 2024).

9. Referências Bibliográficas

- Alam, M., Alam, M., Arndt, K. A., Arndt, K. A., Dover, J. S., & Dover, J. S. (2002). Severe, intractable headache after injection with botulinum a exotoxin: report of 5 cases. *Journal of The American Academy of Dermatology*, 46(1), 62–65. <https://doi.org/10.1067/MJD.2001.118342>
- Ali, F. R., & Al-Niaimi, F. (2016). Justinus Kerner and sausage poisoning: the birth of botulinum toxin. *International Journal of Dermatology*, 55(11), 1295–1296. <https://doi.org/10.1111/IJD.13364>
- Alimohammadi, M., & Rostedt Punga, A. (2017). Neurophysiological Measures of Efficacy and Safety for Botulinum Toxin Injection in Facial and Bulbar Muscles: Special Considerations. *Toxins*, 9(11), 352. <https://doi.org/10.3390/TOXINS9110352>
- Almeida, B. L. R. de, Giacomini, A., & Chichorro, J. G. (2022). Botulinum. *Health and Society*, 2(01). <https://doi.org/10.51249/hs.v2i01.664>
- Amer, A., Amer, M., & Nofal, H. (2021). Botulinum Toxin for the Face. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.94495>
- Anderson, E. R. (2004). Proper dose, preparation, and storage of botulinum neurotoxin serotype A. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 61. https://doi.org/10.1093/AJHP/61.SUPPL_6.S24
- Anido, J., Arenas, D., Arruabarrena, C., Domínguez-Gil, A., Fajardo, C., Mira, M., Murillo, J., Ribé, N., Rivera, H., Ruiz del Cueto, S., Silvestre, H., & Tirado, M. (2017). Tailored botulinum toxin type A injections in aesthetic medicine: consensus panel recommendations for treating the forehead based on individual facial anatomy and muscle tone. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 10, 413–421. <https://doi.org/10.2147/CCID.S138274>
- Aoki, K. R. (2008). Future aspects of botulinum neurotoxins. *Journal of Neural Transmission*, 115(4), 567–573. <https://doi.org/10.1007/S00702-007-0758-9>
- Arsiwala, S. Z. (2015). Current trends in facial rejuvenation with fillers. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*, 8(3), 125–126. <https://doi.org/10.4103/0974-2077.167261>
- Ashford, S., Slade, M., Nair, A., & Turner-Stokes, L. (2014). ArmActivitymeasure(ArMA) applicationforrecording functionalgainfollowingfocal spasticitytreatment. <https://www.magonlinelibrary.com/doi/pdf/10.12968/ijtr.2014.21.1.10>

- Avé, B. R. C. (2019). Botulinum Toxin for Forehead (pp. 1–6). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-20253-2_2-2
- Ayyar, B. V., Aoki, K. R., & Atassi, M. Z. (2015). The C-Terminal Heavy-Chain Domain of Botulinum Neurotoxin A Is Not the Only Site That Binds Neurons, as the N-Terminal Heavy-Chain Domain Also Plays a Very Active Role in Toxin-Cell Binding and Interactions. *Infection and Immunity*, 83(4), 1465–1476. <https://doi.org/10.1128/IAI.00063-15>
- Azzalure®**. (2022). *Resumo das Características do Medicamento (RCM)*. Galderma (UK) Ltd. INFARMED.
- Banach, A., Grzech, P., Borowska-Łygan, M., Kreczyńska, L., Zubrzycka, W., Harnicki, P., Ożóg, W., & Piskorowska, K. (2025). Vast applications of botulinum neurotoxin in neurology - systematic review. *Journal of Education, Health and Sport*, 82, 60469. <https://doi.org/10.12775/jehs.2025.82.60469>
- Barros, M. D., Pinto, A., Liquidato, B. M., & Montor, W. R. (2020). Tip Chapter: Anatomy of the Face, Neck, Hands and Genital Areas (pp. 271–291). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78265-2_40
- Bashir, M. A., & Khalid, A. (2025). Botulinum toxin beyond borders: Enhancing global access and understanding. *Annals of Movement Disorders*. https://doi.org/10.4103/aomd.aomd_74_24
- Bellini, D., Dos Santos, M. B. F., De Paula Prisco Da Cunha, V., & Marchini, L. (2009). Patients' expectations and satisfaction of complete denture therapy and correlation with locus of control. *Journal of Oral Rehabilitation*, 36(9), 682–686. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2842.2009.01967.X>
- Bocouture®**. (2022). *Resumo das Características do Medicamento (RCM)*. Merz Pharmaceuticals GmbH. INFARMED.
- Bombonato, L. M., Diel, S. O., Bonone, G. L., Campanha, I. B., de Castro, R. S., Dacome, M. L. F. da M., Machado, A. C. P., & Ruffini, C. de L. (2025). Erros e consequências na aplicação da toxina botulínica: uma revisão abrangente. <https://doi.org/10.56238/edimprato2025.028-007>
- Borodic, G. E. (2009). Extended Length Botulinum Toxin Formulation for Human or Mammalian Use. <https://europepmc.org/article/PAT/WO2010096134>

- Brin, M. F., & Burstein, R. (2023). Botox (onabotulinumtoxinA) mechanism of action. *Medicine*, 102. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000032372>
- Brin, M. F., James, C., & Maltman, J. (2014). Botulinum toxin type A products are not interchangeable: a review of the evidence. *Biologics: Targets & Therapy*, 8, 227–241. <https://doi.org/10.2147/BTT.S65603>
- Burshtein, A., & Burshtein, J. (2025). Clinical Approach to Botulinum Toxin in Cosmetic Dermatology and Neurological Conditions. *Skin*, 9(5), 2566–2573. <https://doi.org/10.25251/6e6n5t29>
- Cano Montejano, J. C. (2024). Agencia Europea de Medicamentos: análisis jurídico y comparación con la FDA estadounidense. *Civitas. Revista Española de Derecho Europeo*, 88, 49–108. https://doi.org/10.37417/rede/num88_2023_1572
- Carr, W. W., Jain, N., & Sublett, J. W. (2021). Immunogenicity of Botulinum Toxin Formulations: Potential Therapeutic Implications. *Advances in Therapy*, 38(10), 5046–5064. <https://doi.org/10.1007/S12325-021-01882-9>
- Carruthers, A., & Carruthers, J. (2017). History of Botulinum Toxin for Medical and Aesthetic Use (pp. 1–12). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118661833.CH1>
- Carruthers, A., Kane, M. A. C., Flynn, T. C., Huang, P., Kim, S. D., Solish, N., & Kaeuper, G. (2013). The convergence of medicine and neurotoxins: a focus on botulinum toxin type A and its application in aesthetic medicine--a global, evidence-based botulinum toxin consensus education initiative: part I: botulinum toxin in clinical and cosmetic practice. *Dermatologic Surgery*, 39(3), 493–509. <https://doi.org/10.1111/DSU.12147>
- Cechanovičiūtė, V. (2024). Botulinum toxin injections for facial rejuvenation: complications and their avoidance. *Health Sciences*. <https://doi.org/10.35988/sm-hs.2024.127>
- Chao, K., Moradi, A., & Khalifian, S. (2022). DaxibotulinumtoxinA for injection: A review of the current data. *Dermatological Reviews*, 3(4), 221–230. <https://doi.org/10.1002/der2.133>
- Chen, Z. P., Morris, J. G., Rodriguez, R. L., Shukla, A. W., Tapia-Núñez, J., & Okun, M. S. (2012). Emerging Opportunities for Serotypes of Botulinum Neurotoxins. *Toxins*, 4(11), 1196–1222. <https://doi.org/10.3390/TOXINS4111196>
- Cheng, C. M. (2007). Cosmetic use of botulinum toxin type A in the elderly. *Clinical Interventions in Aging*, 2(1), 81–83. <https://doi.org/10.2147/CIIA.2007.2.1.81>

- Chernyshov, P. V. (2019). The Evolution of Quality of Life Assessment and Use in Dermatology. *Dermatology*, 235(3), 167–174. <https://doi.org/10.1159/000496923>
- Collier, H. (2013). Prevention versus correction: how young is too young for botulinum toxin injections? *Journal of Aesthetic Nursing*, 2(5), 216–223. <https://doi.org/10.12968/JOAN.2013.2.5.216>
- Coté, T. R., Mohan, A. K., Polder, J. A., Walton, M. K., & Braun, M. M. (2005). Botulinum toxin type A injections: adverse events reported to the US Food and Drug Administration in therapeutic and cosmetic cases. *Journal of The American Academy of Dermatology*, 53(3), 407–415. <https://doi.org/10.1016/J.JAAD.2005.06.011>
- Cruz, A. Í., Lima, J. M. C. S. R., Araújo, L. F., Silva, M. F. S., Lima, P. C. C. S. R., & Ferreira, R. V. de V. L. (2020). O uso de toxina botulínica em gestantes e lactantes: revisão de literatura. *Research, Society and Development*, 9(11). <https://doi.org/10.33448/RSD-V9I11.10471>
- Curi, P., Quintino, J. V. S., Golin, I. Z., Nunes, B. C., & Paixão, M. B. (2024). Fatores de risco para infecções pós-aplicação de toxina botulínica. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*. <https://doi.org/10.51891/rease.v10i5.13816>
- D'Souza, A., & Ng, C. L. (2020). Applied Anatomy for Botulinum Toxin Injection in Cosmetic Interventions. *Current Otorhinolaryngology Reports*, 8(4), 336–343. <https://doi.org/10.1007/S40136-020-00308-4>
- Dantas, I. N., de Oliveira, A. C. M., Brito, M. B. da C., Lima, R. D. F., Soares, V. B. R. B., & Moreira, A. G. (2022). Botulinum toxin for correction of gingival smile. *Health and Society*, 2(02). <https://doi.org/10.51249/hs.v2i02.755>
- Davis, T. (2020). Botulinum toxin injection, dilution confusion: The impact of toxin diffusion on clinical practice. *Journal of Pediatric Rehabilitation Medicine*, 13(2), 201–204. <https://doi.org/10.3233/PRM-200721>
- Daxxify™**. (2023). *Product Information approved by the European Medicines Agency (EMA)*. Revance Therapeutics. EMA.
- DeLisser, H. M. (2006). NEUROMUSCULAR DISEASE | Myasthenia Gravis and Other Diseases of the Neuromuscular Junction (pp. 124–131). <https://doi.org/10.1016/B0-12-370879-6/00260-X>

- Dolly, J. O., & Lawrence, G. W. (2014). Chapter 3: Molecular basis for the therapeutic effectiveness of botulinum neurotoxin type A. *Neurourology and Urodynamics*, 33. <https://doi.org/10.1002/NAU.22634>
- Domínguez-Duarte, A. (2022). Aesthetic implications of depressor supercilii muscle block with botulinum toxin type A. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 21(4), 1374–1378. <https://doi.org/10.1111/jocd.14856>
- Dong, M., & Stenmark, P. (2021). The Structure and Classification of Botulinum Toxins (Vol. 263, pp. 11–33). Springer Nature Switzerland AG. https://doi.org/10.1007/164_2019_342
- dos Reis, M. C., Fittipaldi, L. E., Nacano, B. R. M., & Bonetti, F. C. (2024). Riscos associados à utilização da toxina botulínica. <https://doi.org/10.51161/iii-conasau/43450>
- Dressler, D. (2012). Pharmakologie der Botulinumtoxinmedikamente. *Hno*, 60(6), 496–504. <https://doi.org/10.1007/S00106-012-2494-1>
- Dressler, D. (2020). Clinical Pharmacology of Botulinum Toxin Drugs. In *Handb Exp Pharmacol* (Vol. 263, pp. 93–106). https://doi.org/10.1007/164_2019_273
- Dressler, D., & Benecke, R. (2006). Xeomin®: Perspektiven einer neuen therapeutischen Botulinumtoxinpräparation. *Aktuelle Neurologie*, 33(03), 138–141. <https://doi.org/10.1055/S-2005-915441>
- Dressler, D., & Bigalke, H. (2016). Reconstituting botulinum toxin drugs: shaking, stirring or what? *Journal of Neural Transmission*, 123(5), 523–525. <https://doi.org/10.1007/S00702-016-1538-1>
- Duplantier, A. J., Kane, C. D., & Bavari, S. (2016). Searching for Therapeutics Against Botulinum Neurotoxins: A True Challenge for Drug Discovery. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 16(21), 2330–2349. <https://doi.org/10.2174/1568026616666160413135630>
- El Bedewi, A. (2012). The Effect of Mesobotox Together with Intense Pulsed Light on Facial Wrinkles and Erythema. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, 2012(1), 16–19. <https://doi.org/10.4236/JCDSA.2012.21005>
- Erbguth, F. (2013). Justinus Kerners therapeutische Visionen „reloaded“. *Nervenheilkunde*, 32(12), 909–915. <https://doi.org/10.1055/S-0038-1633376>
- Eser, F., Hasanoglu, I., Kayaaslan, B., Kalem, A. K., Bilen, Ş., Orhan, G., & Güner, R. (2024). Iatrogenic botulism cases after gastric and axillary application of botulinum toxin and

- review of literature. *Journal of Infection in Developing Countries*, 18(3), 480–487. <https://doi.org/10.3855/jidc.18868>
- Evaluation methods. (n.d.). <https://doi.org/10.4135/9781452224879.n24>
- Farmacovigilância em Portugal: 25 anos. (2019). *Revista Portuguesa de Farmacoterapia*, 11, 80–81. <https://doi.org/10.25756/RPF.V11I2-3.225>
- Ferrari, A., Manca, M., Tugnoli, V., & Alberto, L. (2018). Pharmacological differences and clinical implications of various botulinum toxin preparations: a critical appraisal. *Functional Neurology*, 33(1), 7–18. <https://doi.org/10.11138/FNEUR/2018.33.1.007>
- Firmino, A. de A. (2023). COMPLICATIONS AND SAFETY IN THE USE OF BOTULINUM TOXIN TYPE-A (BoNT-A) FOR AESTHETIC PURPOSES. *International Journal of Health Sciences*. <https://doi.org/10.22533/at.ed.15931002306121>
- Fischer, A. (2012). Synchronized chaperone function of botulinum neurotoxin domains mediates light chain translocation into neurons. (Vol. 364, pp. 115–137). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-33570-9_6
- Florin, W., & Haiavy, J. (2018). Complications in the Cosmetic Use of Botulinum Toxin Type A: Prevention and Management (pp. 141–150). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-58756-1_12
- Francisco, G. E., Jost, W. H., Bavikatte, G., Bandari, D. S., Tang, S. F. T., Munin, M. C., Largent, J., Manack Adams, A., Zuzek, A., & Esquenazi, A. (2020). Individualized OnabotulinumtoxinA Treatment for Upper Limb Spasticity Resulted in High Clinician- and Patient-Reported Satisfaction: Long-Term Observational Results from the ASPIRE Study. *Pm&r*, 12(11), 1120–1133. <https://doi.org/10.1002/PMRJ.12328>
- Freitas, L., de Souza, J. V. G., Rodrigues, J. E. F. S., Pellizzon, B., de Freitas Campos, R. H., Saraiva, V. S., Guimarães, G. M., Argenton, E. C. M., Chasseraux, E., & da Silva, L. L. F. (2025). Uso Preventivo da Toxina Botulínica Tipo A (“Baby Botox”) em Pacientes Jovens Adultos: Uma Revisão Sistemática de Eficácia, Segurança e Impacto Estético. *Brazilian Journal of Biological Sciences*, 12(27), e510. <https://doi.org/10.21472/bjbs.v12n27-024>
- Frevert, J. (2015). Pharmaceutical, Biological, and Clinical Properties of Botulinum Neurotoxin Type A Products. *Drugs in R & D*, 15(1), 1–9. <https://doi.org/10.1007/S40268-014-0077-1>

- Gart, M. S., & Gutowski, K. A. (2015). Aesthetic Uses of Neuromodulators: Current Uses and Future Directions. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 136. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000001773>
- Ghalamghash, R. (2025). Botulinum Toxin Resistance: A Comprehensive Systematic Review of Mechanisms, Risk Factors, Diagnosis, and Management Strategies. <https://doi.org/10.20944/preprints202506.0418.v1>
- Ghalamghash, R. (2025). Synergistic Rejuvenation: A Comprehensive Review of Combination Therapies with Botulinum Toxin and Dermal Fillers in Aesthetic Medicine. https://doi.org/10.31219/osf.io/8gt5q_v1
- Gisele Viana de Oliveira, G. V., Chakraborty, D., Kroumpouzou, E., & Kroumpouzou, G. (2025). Counterfeit Botulinum Toxin and Cosmetic Iatrogenic Botulism: Emerging Threats that Require Regulatory Reform. *Skin*, 9(5), 2574–2583. <https://doi.org/10.25251/kkby0454>
- Gitin, A., Samia, A., Torres, A., Grant-Kels, J. M., & Saikaly, S. K. (2023). Ethics of Performing Dermatologic Cosmetic Enhancement Procedures in Adolescents. *Journal of The American Academy of Dermatology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2023.08.038>
- Gk, L. (1954). The surgical treatment of wrinkles. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*, 60(3), 334–341. <https://doi.org/10.1001/ARCHOTOL.1954.00720010343007>
- Gothe, R. (2024). Mitigating adverse effects in botulinum toxin treatments: Best practices and key findings. *Revista Científica Sistemática*, 14(5), 1350–1354. <https://doi.org/10.56238/rcsv14n5-024>
- Gouraud, A. (2024). La pharmacovigilance, principes et fonctionnement. *La Revue Sage-Femme*, 23(2), 40–43. <https://doi.org/10.1016/j.sagf.2024.01.010>
- Gu, S., & Jin, R. (2012). Assembly and function of the botulinum neurotoxin progenitor complex. (Vol. 364, pp. 21–44). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-33570-9_2
- Haney, B. (2020). Reconstitution and Dosing of Neurotoxins (pp. 91–97). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-19948-7_11
- Harb, A., & Kishner, S. (2020). Modified Ashworth Scale. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554572/>
- Harshman, S. (1988). *Microbial toxins: tools in enzymology*. Academic Press. <http://ci.nii.ac.jp/ncid/BA04816669>

- Hatheway, C. L. (2018). Clostridium botulinum and Other Clostridia that Produce Botulinum Neurotoxin (pp. 2–20). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315139623-1>
- Heckmann, M., & Schön-Hupka, G. (2001). Quantification of the efficacy of botulinum toxin type A by digital image analysis. *Journal of The American Academy of Dermatology*, 45(4), 508–514. <https://doi.org/10.1067/MJD.2001.116216>
- Hefter, H., Brauns, R., Ürer, B., Rosenthal, D., & Albrecht, P. (2020). Effective long-term treatment with incobotulinumtoxin (Xeomin®) without neutralizing antibody induction: a monocentric, cross-sectional study. *Journal of Neurology*, 267(5), 1340–1347. <https://doi.org/10.1007/S00415-019-09681-7>
- Herjan, K., Armański, P., Łocik, G., Bonarska, M., Wróbel, J., & Kozon, K. (2025). Unveiling the expanding clinical horizons of botulinum toxin across medical specialities. *International Journal of Innovative Technologies in Social Science*, 3(47). [https://doi.org/10.31435/ijitss.3\(47\).2025.3485](https://doi.org/10.31435/ijitss.3(47).2025.3485)
- Hirai, Y. (2011). Clostridium botulinum and botulinum neurotoxin. *Brain and Nerve*, 63(7), 755–761. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21747146/>
- Ho, R.-W., Fang, P.-C., Chang, C.-H., Liu, Y.-P., & Kuo, M.-T. (2019). A Review of Periocular Botulinum Neurotoxin on the Tear Film Homeostasis and the Ocular Surface Change. *Toxins*, 11(2), 66. <https://doi.org/10.3390/TOXINS11020066>
- Hoffman, H. T., & Gartlan, M. G. (1993). Stability of Botulinum Toxin in Clinical Use (pp. 661–663). Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9542-4_75
- Hong, S. O. (2023). Cosmetic Treatment Using Botulinum Toxin in the Oral and Maxillofacial Area: A Narrative Review of Esthetic Techniques. *Toxins*, 15(2), 82. <https://doi.org/10.3390/toxins15020082>
- Hsu, T. S. J., Dover, J. S., & Arndt, K. A. (2004). Effect of volume and concentration on the diffusion of botulinum exotoxin A. *Archives of Dermatology*, 140(11), 1351–1354. <https://doi.org/10.1001/ARCHDERM.140.11.1351>
- Hsu, T. S. J., Dover, J. S., & Arndt, K. A. (2004). Effect of volume and concentration on the diffusion of botulinum exotoxin A. *Archives of Dermatology*, 140(11), 1351–1354. <https://doi.org/10.1001/ARCHDERM.140.11.1351>
- Hu, H.-W., Wan, J., Chan, L. K. W., Lee, A. K. W., Sydoruk, O., Jalali, A., Correa, M. C., & Kim, J.-S. (2024). Anatomical Guidelines and Technical Tips for Neck Aesthetics with Botulinum Toxin. *Archives of Plastic Surgery*. <https://doi.org/10.1055/s-0044-1788284>

- Ibatullin, R. A., & Magjanov, R. V. (2018). Case of iatrogenic botulism after botulinotherapy in clinical practice. *Terapevticheskii Arkhiv*, 90(11), 102–104. <https://doi.org/10.26442/TERARKH20189011102-104>
- Iozzo, I., Tengattini, V., & Antonucci, V. A. (2014). Multipoint and multilevel injection technique of botulinum toxin A in facial aesthetics. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 13(2), 135–142. <https://doi.org/10.1111/JOCD.12090>
- Jamaluddin, F. H., Abas, M. F., Ishak, A., & Nordin, N. R. (2025). Unlicensed Cosmetic Botulinum Injection Leading to Iatrogenic Botulism: A Case Analysis and Insights. *International Journal For Multidisciplinary Research*, 7(4). <https://doi.org/10.36948/ijfmr.2025.v07i04.52450>
- Kako, T., Nokura, K., Kaneko, H., & Izawa, H. (2021). Subjective assessment of effectiveness, quality of life, and psychological status of patients receiving botulinum toxin therapy for hemifacial spasm, blepharospasm, or cervical dystonia. 7(1), 12–17. <https://doi.org/10.20407/FMJ.2019-027>
- Kandhari, R., Kaur, I., Gupta, J., & Al-Niimi, F. (2022). Microdroplet Botulinum Toxin: A Review. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*, 15(2), 101–107. https://doi.org/10.4103/jcas.jcas_162_21
- Kaplan, J. B. (2016). The Dilution Confusion: Easy Dosing for Botulinum Toxins. *Plastic Surgical Nursing: Official Journal of the American Society of Plastic and Reconstructive Surgical Nurses*, 36(1), 24–27. <https://doi.org/10.1097/PSN.0000000000000121>
- Kaplan, J. B. (2016). The Dilution Confusion: Easy Dosing for Botulinum Toxins. *Plastic Surgical Nursing: Official Journal of the American Society of Plastic and Reconstructive Surgical Nurses*, 36(1), 24–27. <https://doi.org/10.1097/PSN.0000000000000121>
- Kaplan, J. B. (2017). Consideration of Muscle Depth for Botulinum Toxin Injections: A Three-Dimensional Approach. *Plastic Surgical Nursing: Official Journal of the American Society of Plastic and Reconstructive Surgical Nurses*, 37(1), 32–38. <https://doi.org/10.1097/PSN.0000000000000172>
- Karp, B. I., Cole, R. A., Cohen, L. G., Grill, S., Lou, J. S., & Hallett, M. (1994). Long-term botulinum toxin treatment of focal hand dystonia. *Neurology*, 44(1), 70. <https://doi.org/10.1212/WNL.44.1.70>
- Kehayova, G., Dragomanova, S., & Dimitrova, S. (2025). Botulinum toxin in modern clinical and aesthetic medicine: history, applications, risks and future perspectives. *Фармация*, 72, 1–10. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.72.e149331>

- Kerber, G. L., Veiga, N., Carzino, P. G., Kath, P. C., Luz, K., Narloch, S. D., Silva, E. S., & Locatelli, C. (2025). Microbotox: an innovative approach to facial rejuvenation and dermatological dysfunctions. <https://doi.org/10.56238/sevened2024.030-018>
- Kerscher, M., Rzany, B., Prager, W., Turnbull, C. M., Trevidic, P., & Inglefield, C. (2015). Efficacy and Safety of IncobotulinumtoxinA in the Treatment of Upper Facial Lines: Results From a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase III Study. *Dermatologic Surgery*, 41(10), 1149–1157. <https://doi.org/10.1097/DSS.0000000000000450>
- Khan, S., Milgraum, D. M., Tamhankar, M. A., & Milgraum, S. (2023). Double vision due to lateral rectus injury after cosmetic botulinum toxin injections. *Australasian Journal of Dermatology*. <https://doi.org/10.1111/ajd.14120>
- Khosh, M. M., & Keen, M. S. (1995). Botulinum toxin a injection for forehead rhytids. *Operative Techniques in Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 6(4), 324–326. [https://doi.org/10.1016/S1043-1810\(05\)80010-7](https://doi.org/10.1016/S1043-1810(05)80010-7)
- Kim, H. J., Youn, K.-H., Kim, J. S., Kim, Y. S., Hong, S. O., & Na, J. (2021). US Applications in Botulinum Toxin Injection Procedures (pp. 215–241). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6560-1_8
- Koning-Bastiaan, M. J. (2014). Traceability and Registries for Cell-Based Products. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.11067-0>
- Kostrzewa, R. M., & Segura-Aguilar, J. (2007). Botulinum neurotoxin: Evolution from poison, to research tool - onto medicinal therapeutic and future pharmaceutical panacea. *Neurotoxicity Research*, 12(4), 275–290. <https://doi.org/10.1007/BF03033911>
- Küçüktürkmen, B., & Bozkir, A. (2018). Özel saklama koşulu gerektiren veya soğuk zincire tabi ilaçlar ve uygulamalar açısından değerlendirmeler. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology*, 75(3), 305–322. <https://doi.org/10.5505/TURKHIJYEN.2018.67674>
- Kukreja, R., & Singh, B. R. (2015). The botulinum toxin as a therapeutic agent: molecular and pharmacological insights. 5, 173–183. <https://doi.org/10.2147/RRBC.S60432>
- Kumar, R., & Singh, B. R. (2025). Botulinum Toxin: A Comprehensive Review of Its Molecular Architecture and Mechanistic Action. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(2), 777. <https://doi.org/10.3390/ijms26020777>

- Laguëny, A., & Burbaud, P. (1996). Mécanisme d'action, indication et résultats des traitements par la toxine botulinique. *Neurophysiologie Clinique-Clinical Neurophysiology*, 26(4), 216–226. [https://doi.org/10.1016/S0987-7053\(96\)85003-9](https://doi.org/10.1016/S0987-7053(96)85003-9)
- Landau, M., Klein, J. O., Rosengaus Leizgold, F., & Kroumpouzou, G. (2024). Rare and novel complications of botulinum neurotoxin type a and dermal filler injections. *Clinics in Dermatology*. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2024.06.023>
- Le Louarn, C. (2004). Analyse fonctionnelle de l'injection de toxine botulique à visée esthétique. *Annales De Chirurgie Plastique Esthétique*, 49(5), 527–536. <https://doi.org/10.1016/J.ANPLAS.2004.08.012>
- Lee, K. W. A., Chan, L. K. W., Lee, A. W. K., Lee, C. H., Wan, J., & Yi, K. (2024). Immunogenicity of Botulinum Toxin Type A in Different Clinical and Cosmetic Treatment, a Literature Review. *Reproductive and Developmental Biology*, 14(10), 1217. <https://doi.org/10.3390/life14101217>
- Lentz, J., & Weingrow, D. (2018). Bulbar Muscle Weakness in the Setting of Therapeutic Botulinum Injections. 2(4), 330–333. <https://doi.org/10.5811/CPCEM.2018.8.39178>
- Levy, N. S., & Lowenthal, D. T. (2012). Application of botulinum toxin to clinical therapy: advances and cautions. *American Journal of Therapeutics*, 19(4), 281–286. <https://doi.org/10.1097/MJT.0B013E3181E9B655>
- Lew, M. F., Brashear, A., Dashtipour, K., Isaacson, S., Hausser, R. A., Maisonobe, P., Snyder, D., & Ondo, W. G. (2018). A 500 U/2 mL dilution of abobotulinumtoxinA vs. placebo: randomized study in cervical dystonia. *International Journal of Neuroscience*, 128(7), 619–626. <https://doi.org/10.1080/00207454.2017.1406935>
- Lewandowski, M., Świerczewska, Z., & Barańska-Rybak, W. (2022). Off-Label Use of Botulinum Toxin in Dermatology—Current State of the Art. *Molecules*, 27(10), 3143. <https://doi.org/10.3390/molecules27103143>
- Lima, L. M. A., Calabria, A. C., Kanashiro, I. T. A., & Vilela, V. M. M. (2025). Efeitos adversos do uso estético de toxina botulínica e preenchedores na face: uma revisão narrativa. *Archives of Health*, 6(4), e3537. <https://doi.org/10.46919/archv6n4espec-16498>
- Lomeli, M., & Mercado, M. (2016). What are the complications and complication rates of cosmetic Botox injections. *Evidence-Based Practice*, 19(5), 1–2. <https://doi.org/10.1097/01.EBP.0000541204.06290.18>
- Lorenc, Z. P., Smith, S. R., Nestor, M. S., Nelson, D. B., & Moradi, A. (2013). Understanding the Functional Anatomy of the Frontalis and Glabellar Complex for Optimal Aesthetic

- Botulinum Toxin Type A Therapy. *Aesthetic Plastic Surgery*, 37(5), 975–983. <https://doi.org/10.1007/S00266-013-0178-1>
- Lowe, N. J. (2016). Aesthetic Uses of Botulinum Toxins. 1–9. <https://doi.org/10.1002/9781118441213.RTD0159>
- Lowe, N. J., & Lowe, P. (2012). Botulinum toxins for facial lines: a concise review. *Dermatologic Therapy*, 2(1), 14. <https://doi.org/10.1007/S13555-012-0014-6>
- Mehta, R., & Nagar, C. (2024). Therapeutic Applications of Botulinum Neurotoxin: Insights from a Comprehensive Literature Review. <https://doi.org/10.20944/preprints202409.2013.v1>
- Mogrovejo, H. R. M., Suguihara, R. T., & Muknicka, D. P. (2023). Correção do sorriso gengival com toxina botulínica do tipo A. *Research, Society and Development*, 12(8), e3412842851. <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i8.42851>
- Monash, A., Tam, J., Rosen, O., & Soreq, H. (2025). Botulinum Neurotoxins: History, Mechanism, and Applications. A Narrative Review. *Journal of Neurochemistry*, 169(8). <https://doi.org/10.1111/jnc.70187>
- Mosedale, P., & Harris, D. G. (2023). Record keeping and audits (pp. 10–12). British Small Animal Veterinary Association. <https://doi.org/10.22233/9781913859169.3>
- Mukhopadhyay, A. K. (2023). Blood Sausage to BOTOX: The Story of the Miracle Toxin. *Indian Dermatology Online Journal*, 15(3), 556–558. https://doi.org/10.4103/idoj.idoj_348_23
- Muñoz-Lora, V. R. M., Rogerio, V., Thiesen, V., Carnevali, A. C. N., Bravo, C. M., Shridharani, S. M., Eccleston, D., Alfertshofer, M., Germani, M., & Cotofana, S. (2025). Continuous Improvement of Frontal Rhytids Following Glabella Only Treatments With Neuromodulators—A Clinical Prospective Pilot Study. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 24(8). <https://doi.org/10.1111/jocd.70188>
- Mussarat, A., Mustafa, M. S., Azam, S. T., Nafees uddin, M. M., & Siddiq, M. A. (2023). DAXI (DaxibotulinumtoxinA) – An Innovative Approach for Frown Lines. *International Journal of General Medicine*, 16, 1267–1269. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S406563>
- Nicoletti, M. M., Anatriello, A., Liguori, V., Cantone, A., di Mauro, G., Izzo, I., Lettera, N., Della Razione, J. M., Campitiello, M. R., Cosenza, V., & Scavone, C. (2023). Skin Toxicities Associated with Botulin Toxin Injection for Aesthetic Procedures: Data from the European Spontaneous Reporting System. *Pharmaceuticals*. <https://doi.org/10.3390/ph16111611>

- Okazaki, S., Suzuki, M., & Duncan, K. K. (2025). The influence of repeated frowning and smiling on corrugator muscle activity and wrinkles between eyebrows. *Dental Science Reports*, 15(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-84121-9>
- Park, J., Lee, M. S., & Harrison, A. R. (2011). Profile of Xeomin® (incobotulinumtoxinA) for the treatment of blepharospasm. *Clinical Ophthalmology*, 5(1), 725–732. <https://doi.org/10.2147/OPHTH.S13978>
- Park, K. Y., Jeong, G. J., Ahn, G. R., Seo, S. J., & Youn, C. S. (2020). Split-Face Study of the Efficacy and Persistence of Reconstituted and Refrigerated PrabotulinumtoxinA. *Dermatologic Surgery*, 46(7), 990–993. <https://doi.org/10.1097/DSS.0000000000002017>
- Pascoe, V. L., Pascoe, V. L., Enamandram, M., Corey, K. C., Cheng, C. E., Javorsky, E. J., Sung, S. M., Donahue, K. R., & Kimball, A. B. (2015). Using the Physician Global Assessment in a Clinical Setting to Measure and Track Patient Outcomes. *JAMA Dermatology*, 151(4), 375–381. <https://doi.org/10.1001/JAMADERMATOL.2014.3513>
- Patel, K. R., Rastogi, S., & Prather, H. B. (2022). A comprehensive review on the history, uses, and safety of onabotulinum toxin type A (Botox). *Dermatological Reviews*, 3(4), 180–196. <https://doi.org/10.1002/der2.158>
- Pessoa, T. J. L., Freitas, R. da S., Iida, A. C., & Beck, P. T. (2010). Liberação do músculo depressor do septo nasal para tratamento do sorriso gengival. 7(6), 777–783. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-599210>
- Pham, T. T., & Perry, J. D. (2009). Botulinum toxin type A injection without isopropyl alcohol antisepsis. *Ophthalmic Plastic and Reconstructive Surgery*, 25(3), 178–179. <https://doi.org/10.1097/IOP.0B013E3181A145E5>
- Phan, K., Younessi, S., Dubin, D. P., Lin, M. J., & Khorasani, H. (2021). Emerging Off-Label Aesthetic Uses of Botulinum Toxin in Dermatology. *Dermatologic Therapy*. <https://doi.org/10.1111/DTH.15205>
- Philipp-Dormston, W. G., Bertossi, D., Houschyar, K., & Rahman, E. (2022). Botulinum Toxins for Aesthetic Facial Injections – A scientific review to support evidence-based best practice. *Facial Plastic Surgery*, 38(02), 152–155. <https://doi.org/10.1055/a-1730-8270>
- Pickett, A. (n.d.). Counterfeit Botulinum Medical Products and the Risk of Bioterrorism. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5869-8_28
- Pickett, A., O’Keeffe, R., & Panjwani, N. (2007). The protein load of therapeutic botulinum toxins. *European Journal of Neurology*, 14(4). <https://doi.org/10.1111/J.1468-1331.2007.01683.X>

- Popoff, M. R., Marvaud, J. C., & Raffestin, S. (2001). Mechanism of action and therapeutic uses of botulinum and tetanus neurotoxins. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 59(3), 176–190. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11427819/>
- Queneau, P., Lecomte, D., Moneret-Vautrin, D. A., Costentin, J., Couturier, D., Giroud, J.-P., Hollender, L., Joly, P., Juillet, Y., Montastruc, J. L., Queneau, P., Sassard, J., & Tillement, J.-P. (2011). Sécurité du médicament et pharmacovigilance. *Bulletin De L Academie Nationale De Medecine*, 195(6), 1369–1376. [https://doi.org/10.1016/S0001-4079\(19\)31995-8](https://doi.org/10.1016/S0001-4079(19)31995-8)
- Rahman, E., Banerjee, P. S., Asghar, A., Gupta, N., & Mosahebi, A. (2022). Botulinum Toxin Type A Immunogenicity across Multiple Indications: An Overview Systematic Review. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 149, 837–848. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000008904>
- Ramirez-Castaneda, J., Jankovic, J., Comella, C. L., Dashtipour, K., Fernandez, H. H., & Mari, Z. (2013). Diffusion, spread, and migration of botulinum toxin. *Movement Disorders*, 28(13), 1775–1783. <https://doi.org/10.1002/MDS.25582>
- Rappl, T., Wurzer, P., Wurzer, P., May, S., Tuca, A., Cambiaso-Daniel, J., Parvizi, D., Kamolz, L. P., Kamolz, L. P., & Lumenta, D. B. (2019). Three-Dimensional Evaluation of Static and Dynamic Effects of Botulinum Toxin A on Glabellar Frown Lines. *Aesthetic Plastic Surgery*, 43(1), 206–212. <https://doi.org/10.1007/S00266-018-1230-Y>
- Rasetti-Escargueil, C., & Palea, S. (2024). Embracing the Versatility of Botulinum Neurotoxins in Conventional and New Therapeutic Applications. *Toxins*, 16(6), 261. <https://doi.org/10.3390/toxins16060261>
- Rasetti-Escargueil, C., & Popoff, M. R. (2020). Engineering Botulinum Neurotoxins for Enhanced Therapeutic Applications and Vaccine Development. *Toxins*, 13(1), 1. <https://doi.org/10.3390/TOXINS13010001>
- Robinson, D. M., Horne, D. F., & Rohrer, T. E. (2015). Shaping of the Eyebrows with Botulinum Toxin Type A (BoNT-A) (pp. 413–415). Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1544-6_129
- Rodrigues, S. Z. S., dos Santos, M. E. S., Sousa, S. S., & Chaves, K. R. do N. (2024). Eficácia, segurança e durabilidade da toxina botulínica no rejuvenescimento facial: uma revisão integrativa da literatura. *Foco*, 17(9), e6219. <https://doi.org/10.54751/revistafoco.v17n9-127>

- Rohrich, R. J., Janis, J. E., Fagien, S., & Stuzin, J. M. (2003). Botulinum toxin: expanding role in medicine. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 112. <https://doi.org/10.1097/01.PRS.0000082188.55598.34>
- Roposch, A. (2005). Gesundheitszustand und Lebensqualität: Möglichkeiten der Bewertung von Behandlungsergebnissen. *Orthopade*, 34(4), 375–382. <https://doi.org/10.1007/S00132-005-0781-1>
- Rostedt Punga, A., Alimohammadi, M., Fagrell, D., Nyberg, F., Rees, D., & Wong, C. (2016). A Randomized, Comparative Study to Evaluate Efficacy and Safety of Two Injection Volumes of AbobotulinumtoxinA in Treatment of Glabellar Lines. *Dermatologic Surgery*, 42(8), 967–976. <https://doi.org/10.1097/DSS.0000000000000805>
- Ruegg, C. L., & Waugh, J. M. (2016). Injectable botulinum toxin formulations and methods of use thereof having long duration of therapeutic or cosmetic effect. <https://patents.google.com/patent/WO2017075468A1/en>
- Salame, N., Cox, S. E., & Dover, J. S. (2024). Daxxify: Recommendations for Treatment. *Advances in Cosmetic Surgery*. <https://doi.org/10.1016/j.yacs.2023.12.001>
- Salem, S. A., Seoudy, W. M., Abd El-Rahman, N. S., & Afify, A. A. (2024). Different Dilutions of Mesobotox in Facial Rejuvenation: Which is Better? *Aesthetic Plastic Surgery*. <https://doi.org/10.1007/s00266-024-04029-7>
- Santini, C. (2008). The “pharmaceutical chain”, important asset of health safety in France. Synthesis of the session. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 66(5), 9–12. <https://doi.org/10.1016/J.PHARMA.2008.10.002>
- Santos, E. S., Amorim, L. L. A., Gomes, R. V. B., Silva, S. L., de Lima, R. R. M., De Lira, K. L., & Leal, B. D. S. (2025). Aplicabilidade da toxina botulínica: atuação do biomédico. *Revista Fisio&terapia*, 29(146), 38–39. <https://doi.org/10.69849/revistaf/pa10202505251338>
- Savkina, M., Кривых, М. А., Sayapina, L. V., Obukhov, Yu. I., & Bondarev, V. P. (2023). Botulinum toxin preparations: areas for improvement and issues of standardisation. *Биопрепараты. Профилактика, Диагностика, Лечение*, 23(3), 262–274. <https://doi.org/10.30895/2221-996x-2023-23-3-262-274>
- Schavelzon, D., Blugerman, G., Wexler, G., & Martínez, L. (2016). Botulinum Toxin in the Nasal Area. *InTech*. <https://doi.org/10.5772/62070>

- Schroeder, A. S., Koerte, I. K., Berweck, S., Ertl-Wagner, B., & Heinen, F. (2010). How doctors think--and treat with botulinum toxin. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 52(9), 875–876. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8749.2010.03692.X>
- Shikhkerimov, R. K., & Istomina, E. V. (2022). Recombinant botulinum toxin as a new stage in the development of botulinum toxin therapy. Possibilities and perspectives of use in neurological practice. *Nevrologiâ, Nejropsihiatriâ, Psihosomatika*, 14(6), 103–109. <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2022-6-103-109>
- Shridharani, S. M., & Kennedy, M. L. (2022). Clinical applications and historical perspectives of PrabotulinumtoxinA-xvfs (Jeuveau). *Dermatological Reviews*, 3(4), 218–220. <https://doi.org/10.1002/der2.151>
- Shridharani, S. M., Moradi, A., Donofrio, L., Gold, M. H., Biesman, B. S., Chiang, M., George, R., Polder, K. D., Solish, N., Schwarcz, R., Liu, X., Axén, E., & Prygova, I. (2024). Efficacy and Safety of RelabotulinumtoxinA, a New Ready-to-Use Liquid Formulation Botulinum Toxin: Results From the READY-1 Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Phase 3 Trial in Glabellar Lines. *Aesthetic Surgery Journal*. <https://doi.org/10.1093/asj/sjae131>
- Silva, J. F. N.** (2011). A aplicação da toxina botulínica e suas complicações [Dissertação de mestrado, Universidade do Porto]. Universidade do Porto. <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/57190/2/Joana%20Filipa%20Nogueira%20da%20Silva%200%20pdf.pdf>
- Singh, A., Hodge, D. R., & Sharma, S. (2015). Stabilization of Clostridium botulinum Toxin Complex Using Chemical Crosslinkers. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 2015(02), 1–4. <https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000180>
- Smit, R., Gubanova, E., Kaufman, J., Landau, M., Molina, B., Andriopoulos, B., Maisonobe, P., Prygova, I., & Redaelli, A. (2021). Patient Satisfaction with AbobotulinumtoxinA for Aesthetic Use in the Upper Face: A Systematic Literature Review and Post-hoc Analysis of the APPEAL Study. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*, 14(2). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34221231/>
- Stoleriu, G., Petrescu, M., Porumb-Andrese, E., Ignat, A., Ciubară, A., Manolache, N., & Brănișteanu, D. (2025). Psychiatric status in individuals seeking medical aesthetic facial changes. 17(1), 590–596. <https://doi.org/10.62610/tjor.2025.1.17.58>

- Su, H., Qin, X., Li, K., Yao, M., Chen, M., Wang, L., & Luo, Y. (2023). Safety and Efficacy of Botulinum toxin Toxin A combined with Radiofrequency Home- Device for Rejuvenation. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3427642/v1>
- Swaminathan, S., & Eswaramoorthy, S. (2001). Crystal structure of clostridium botulinum neurotoxin serotype b. Brookhaven National Laboratory. https://digital.library.unt.edu/ark:/67531/metadc725658/m2/1/high_res_d/789785.pdf
- Szwed, M., Szwed, J., & Dzikowski, M. (2022). Botulinum toxin (BoNT) in the correction of mimic wrinkles - the most common complications. *Journal of Education, Health and Sport*, 12(8), 714–721. <https://doi.org/10.12775/jehs.2022.12.08.072>
- Talarico, S., Ventura, K. F., Hassun, K. M., Macedo, F., Parada, M. B., Palermo, E., & Pecora, C. S. (2011). Incobotulinumtoxina is Effective and Safe for Treating Expression Wrinkles in the Upper Third of the Face: A Phase III, Open-Label Clinical Study. *Journal of Clinical & Experimental Dermatology Research*, 2(8), 1–5. <https://doi.org/10.4172/2155-9554.1000134>
- Tamura, B., Odo, M. E. Y., Chang, B., Cucé, L. C., & Flynn, T. C. (2005). Treatment of Nasal Wrinkles with Botulinum Toxin. *Dermatologic Surgery*, 31(3), 271–275. <https://doi.org/10.1111/J.1524-4725.2005.31072>
- Tatu, L., & Feugeas, J.-P. (2021). Botulinum Toxin in WW2 German and Allied Armies: Failures and Myths of Weaponization. *European Neurology*, 84(1), 1–8. <https://doi.org/10.1159/000512812>
- The Use of Validated Visual Scales in Plastic Surgery: Where Are We Now? (2022). *Plastic and Reconstructive Surgery*, Publish Ahead of Print. <https://doi.org/10.1097/prs.0000000000009196>
- Truong, D., & Hallett, M. (2014). Botulinum neurotoxin: history of clinical development (pp. 8–11). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139178068.003>
- Truong, D., Xing, F., & Hallett, M. (2023). Pharmacology of Botulinum Toxin Therapy (pp. 13–17). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781009105033.004>
- Vaidyanathan, V. V., Yoshino, K., Jahnz, M., Dörries, C., Bade, S., Nauenburg, S., Niemann, H., & Binz, T. (1999). Proteolysis of SNAP-25 isoforms by botulinum neurotoxin types A, C, and E: domains and amino acid residues controlling the formation of enzyme-substrate complexes and cleavage. *Journal of Neurochemistry*, 72(1), 327–337. <https://doi.org/10.1046/J.1471-4159.1999.0720327.X>

- Vale, G. T. (2023). Evaluation of the Efficacy and Safety of the Combined Use of Botulinum Toxin and Collagen Biostimulators in Aesthetic Treatment. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, 10(5), 061–068. <https://doi.org/10.22161/ijaers.105.9>
- Vargas-Laguna, E., Silvestre-Torner, N., & Magaletsky, K. (2024). Toxina botulínica con fines estéticos en zonas facial y cervical: una revisión de las técnicas empleadas en dermatología. *Actas Dermo-Sifiliográficas*. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2024.12.007>
- Vidal, P., Berner, J. E., Castillo, P., Rochefort, G., & Loubies, R. (2013). Descended mouth corner: an ignored but needed feature of facial rejuvenation. *Archives of Plastic Surgery*, 40(6), 783–786. <https://doi.org/10.5999/APS.2013.40.6.783>
- Vieira, M. G., Alves, L. T., Silva, A. M. da, Rabelo, V. de A., Rogerio, V., & Garcia, N. G. (2020). Botulinum Toxin for Eyebrow Repositioning and Facial Rejuvenation – case report. 11(20). <https://doi.org/10.33309/2639-8281.030202>
- Vistabel®.** (2022). *Resumo das Características do Medicamento (RCM)*. Allergan Pharmaceuticals Ireland. INFARMED.
- Walden, J. L. (2008). Definitive Treatment for Crow’s Feet Wrinkles by Total Myectomy of the Lateral Orbicularis Oculi. *Aesthetic Plastic Surgery*, 32(5), 783–784. <https://doi.org/10.1007/S00266-008-9205-Z>
- Washbourne, P., Pellizzari, R., Rossetto, O., Bortoletto, N., Tugnoli, V., De Grandis, D., Eleopra, R., & Montecucco, C. (1998). On the action of botulinum neurotoxins A and E at cholinergic terminals. *Journal of Physiology-Paris*, 92(2), 135–139. [https://doi.org/10.1016/S0928-4257\(98\)80151-4](https://doi.org/10.1016/S0928-4257(98)80151-4)
- Wiest, L. G. (2009). An overview of the cosmetic treatment of facial muscles with a new botulinum toxin. *Acta Dermatovenerologica Croatica*, 17(1), 48–53. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19386215/>
- Wilson, R. B., Boley, M. T., & Corwin, B. (1995). Presumptive botulism in cattle associated with plastic-packaged hay. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 7(1), 167–169. <https://doi.org/10.1177/104063879500700131>
- Witmanowski, H., & Błochowiak, K. (2020). The whole truth about botulinum toxin – a review. *Postepy Dermatologii I Alergologii*, 37(6), 853–861. <https://doi.org/10.5114/ADA.2019.82795>

- Wohlfarth, K., Schwandt, I., Wegner, F., Jürgens, T., Gelbrich, G., Wagner, A., Bogdahn, U., & Schulte-Mattler, W. J. (2008). Biological activity of two botulinum toxin type A complexes (Dysport® and Botox®)
- Wu, W. T. L. (2015). Microbotox of the Lower Face and Neck: Evolution of a Personal Technique and Its Clinical Effects. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 136(6). <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000001827>
- Xeomin®**. (2022). *Resumo das Características do Medicamento (RCM)*. Merz Pharmaceuticals GmbH. INFARMED.
- Yiannakopoulou, E. (2015). Serious and long-term adverse events associated with the therapeutic and cosmetic use of botulinum toxin. *Pharmacology*, 95, 65–69. <https://doi.org/10.1159/000370245>
- Yim, H., & Kim, C.-S. (2017). Stable liquid composition comprising botulinum toxin. <https://www.freepatentsonline.com/y2020/0121599.html>
- Yoshida, K. (2022). Effects of Botulinum Toxin Therapy on Health-Related Quality of Life Evaluated by the Oromandibular Dystonia Rating Scale. *Toxins*, 14(10), 656. <https://doi.org/10.3390/toxins14100656>
- Zanetti, G., Sikorra, S., Rummel, A., Krez, N., Duregotti, E., Negro, S., Henke, T., Rossetto, O., Binz, T., & Pirazzini, M. (2017). Botulinum neurotoxin C mutants reveal different effects of syntaxin or SNAP-25 proteolysis on neuromuscular transmission. *PLOS Pathogens*, 13(8). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1006567>
- Лукьянов, А. М. (n.d.). Botulinum Toxin Type A for Aesthetic Use: Middle and Lower Third of the Face and Neck. <https://doi.org/10.34883/pi.2021.7.1.012>
- Лукьянов, А. М., & Тагиева, Ф. Р. (2024). Ботулинотерапия гипертрофии жевательной мышцы: нормализация функциональной активности и гармонизация нижней трети лица. *Дерматовенерология, Косметология*, 10(4), 390–408. <https://doi.org/10.34883/pi.2024.10.4.014>
- 中山恭秀, 臼井友一, & 宮野佐年. (2004). modified Ashworth scaleによる痙縮評価の日内変動に関する研究. 2003. <https://doi.org/10.14900/CJPT.2003.0.A0713.0>