

## Botulismo y toxina botulínica

Pérez-Pérez H, Rubio C, Pozuelo MR, Revert C y Hardisson A

Área de Toxicología. Facultad de Medicina. Universidad de La Laguna. 38071 La Laguna. S/C de Tenerife.

Tfno: 922-319372. Fax: 922-319279. e-mail: crubio@ull.es

Recibido 22 de Marzo de 2002 / Aceptado 5 de Noviembre de 2002

**Resumen:** El botulismo es una toxi-infección producida por la bacteria anaerobia *Clostridium botulinum* por medio de una potentísima toxina, la toxina botulínica, de la cual existen ocho serotipos diferentes. Ésta es capaz de provocar en humanos al menos cuatro cuadros clínicos diferentes por bloqueo de la transmisión neuromuscular, y que pueden variar en gravedad desde la casi ausencia de síntomas hasta la muerte por parálisis respiratoria. Paradójicamente, la toxina botulínica se presenta también como un arma terapéutica eficaz y segura en decenas de enfermedades, si bien gran parte de estas potenciales aplicaciones está aún en fase de investigación.

**Palabras clave:** Botulismo, toxina botulínica.

**Abstract: Botulism and botulinum toxin.** Botulism is a toxic infection produced by the anerobic bacterium *Clostridium botulinum* through a powerful toxin, which has eight different serotypes: the botulinum toxin. This toxin is able to produce disease in humans by blocking neuromuscular transmission by at least four different ways. The affection can go from the nearly absence of symptoms to death after respiratory paralysis. Paradoxically, botulinum toxin has also become an efficacious, safe therapeutic tool in several kinds of conditions, although most of these potential uses are still in research stages.

**Key words:** Botulism, botulinum toxin.

### Introducción

El botulismo se remonta a Oriente Medio, durante el reinado del emperador de Bizancio, León VI (886-911), el cual prohibió la preparación y venta de morcilla (*botulus*) por asociarla con una enfermedad de muy grave pronóstico. Se le llama también alantiasis por aparecer asimismo después de la ingestión de salchichas (*alantos* en griego) contaminadas.

El estudio de la bacteria causante de la enfermedad no comenzó hasta 1896. Se le atribuye a Emile van Ermengem, discípulo belga de Robert Koch y Claude Bernard, el descubrimiento de la toxina botulínica a partir del aislamiento de un bacilo anaerobio esporulado. Lo nombró *Bacillus botulinus*. En 1920, al ser ya considerado un anaerobio estricto, el bacilo fue transferido por

Holland al género *Clostridium*, siendo llamado desde entonces *Clostridium botulinum*. En 1970 se aisló el último de los ocho serotipos de toxina botulínica que se conocen hoy.

### Manifestaciones clínicas, diagnóstico y tratamiento del botulismo:

El botulismo es la enfermedad causada por las neurotoxinas de *Clostridium botulinum*, que tienen un efecto paralizante progresivo de inicio en los nervios craneales y extensión caudal a las extremidades [1].

Existen cuatro formas de botulismo: 1) botulismo transmitido por alimentos (por la ingestión de la toxina preformada en alimentos contaminados por la bacteria) [1, 2]; 2) botulismo de las heridas (por producción de toxina *in vivo* en heridas contaminadas) [1, 2]; 3) botulismo infantil (por ingestión de esporas y producción de toxina en el intestino del lactante) [1, 2]; y 4) indeterminado, donde se incluyen casos de niños mayores y adultos en los que la enfermedad se produce por un mecanismo similar al del infantil [1].

En el *botulismo alimentario*, la enfermedad, que se presenta tras un período de incubación de 24 horas a 4 días después de la absorción de la toxina [1, 3, 4], varía desde formas leves que no requieren atención médica hasta un cuadro grave que puede provocar la muerte en 24 horas por una parálisis flácida descendente simétrica que ocasiona insuficiencia respiratoria [1, 2, 3]. Los síntomas comienzan con afectación de los nervios craneales (diplopía, disartria, disfagia), agravándose progresivamente la debilidad motora, que pasa a cuello, brazos, tórax y piernas. Puede haber náuseas, vómitos y dolor abdominal antes o después del comienzo de la parálisis. Hay además mareos, visión borrosa y boca seca. No aparecen fiebre ni alteración del nivel de conciencia. Es frecuente que existan ptosis, pupilas dilatadas y fijadas, reflejos pupilares atenuados, fleo paralítico, estreñimiento intenso (tras un período de diarrea inicial) y retención urinaria [1, 2, 3, 4].

El *botulismo de las heridas* es similar al alimentario, aunque tiene un período de incubación más largo (unos 10 días) y faltan los síntomas digestivos [1, 2].

El *botulismo del lactante* es hoy la forma más frecuente de botulismo en EE.UU. [1, 2]. Su intensidad varía desde las formas

leves, en las que el lactante deja de ganar peso, hasta las fulminantes, con parálisis e insuficiencia respiratoria, pudiendo ser una de las causas de muerte súbita del lactante [1, 2]. Aunque la mayoría de los casos no puede atribuirse a ningún alimento concreto, se sabe que la miel contaminada es una fuente de esporas, por lo que se aconseja que no se alimente con miel a los niños menores de un año de edad [1, 2]. La colonización intestinal por *C. botulinum* suele afectar a lactantes de menos de 6 meses de edad; esta susceptibilidad puede disminuir al desarrollarse la flora intestinal normal [1].

El *botulismo indeterminado* (también denominado botulismo infeccioso entérico del adulto, botulismo infeccioso del adulto de origen desconocido y botulismo infantil del adulto) incluye los casos que no pueden atribuirse a un alimento concreto. Aquí la toxina se produce en el intestino en personas colonizadas por el germen. Se encuentran toxinas y microorganismos en las heces y en el alimento sospechoso pueden encontrarse esporas, pero no toxina. La enfermedad gastrointestinal o la cirugía pueden predisponer al trastorno [1].

El **diagnóstico** del botulismo es esencialmente clínico. Se confirma por el aislamiento del microorganismo (a partir del alimento, heces o vómitos) o demostración de la actividad de la toxina (en el alimento, heces o suero, mediante un bioanálisis en ratón) [1, 2].

El **tratamiento** exige soporte ventilatorio y vigilancia intensiva del enfermo [1, 2]. En los casos vehiculados por alimentos (serotipos A, B y E) debe administrarse antitoxina trivalente de caballo [1, 2]. Si no hay íleo paralítico, se pueden dar purgantes y enemas para eliminar la toxina del intestino; los vómitos y el lavado gástrico sólo se utilizan si la ingestión fue reciente, de unas horas antes [1]. No está demostrada la eficacia de los antibióticos [1]. En el botulismo infantil, ni la antitoxina equina ni los antibióticos son beneficiosos. En el botulismo de las heridas sí se administra la antitoxina, además de revisarse y desbridarse la herida, y se da penicilina para eliminar la bacteria, si bien no está probada su utilidad [1].

## LA TOXINA BOTULÍNICA

La toxina botulínica (TXB) fue descubierta en 1897 e introducida como agente terapéutico en 1977. Esta potentísima toxina se ha convertido en un fármaco muy útil cuya lista de posibles aplicaciones no deja de aumentar, sobre todo en los campos de las hiperfunciones musculares y las disfunciones del sistema nervioso autónomo, aspectos que se comentarán más adelante.

La TXB está producida por el bacilo *Clostridium botulinum*, Gram negativo y anaerobio estricto formador de esporas. Esta bacteria tiene una tolerancia variable al oxígeno, pero no crece jamás en atmósferas que contienen más de un 10% de oxígeno [5]. *Clostridium botulinum* es capaz de producir en el hombre y en el resto de mamíferos la intoxicación conocida como botulismo, y que es consecuencia de la ingestión de una toxina preformada en el alimento contaminado.

El botulismo alimentario puede ocurrir a raíz de varias situaciones: 1) cuando un alimento que va a conservarse se contamina con esporas; 2) cuando la conserva no inactiva las esporas, sino que destruye otras bacterias de la putrefacción que pueden inhibir la proliferación de *C. botulinum* y, además, proporciona las

condiciones de pH (mayor de 4'5) y temperatura (menor de 120 °C) que permiten la germinación y la elaboración de la toxina; y 3) cuando no se calienta el alimento ya contaminado hasta una temperatura que destruya la toxina antes de ingerirla (a partir de 85-100 °C) [1, 2, 4, 6, 7].

### Estructura y mecanismo de acción de la toxina botulínica:

Existen ocho subtipos serológicos de toxina botulínica, nombrados de la A a la G (A, B, C1, C2 y de D a G) [1, 2, 8, 9, 10], si bien sólo afectan al sistema nervioso humano los serotipos A, B, E, F y G [10, 4]. Según algunos autores, el tipo G se ha asociado con casos de muerte brusca, pero no con enfermedad neuroparalítica. Únicamente la toxina A es la utilizada en terapéutica, aunque la B, la C y la F se perfilan también como nuevos fármacos [10, 11]. La C2, al contrario que el resto, no es una neurotoxina, sino una citotoxina cuya actuación altera la permeabilidad vascular [2]. La mayoría de los aislamientos bacterianos individuales producen sólo una toxina [2].

Todos los serotipos botulínicos tienen la misma estructura química y un peso molecular de unos 140 a 170 kDa [5, 8, 9]. Son producidos en la fase de crecimiento y se liberan durante la lisis bacteriana, la cual se produce espontáneamente, sobre todo bajo la influencia de autolisinas producidas por la propia cepa [6]. Los serotipos son antigénicos y son inmunológicamente diferentes [1, 5].

La TXB es una proteína compuesta de una cadena ligera L (de unos 50 kDa) y una cadena pesada H (de unos 100 kDa) unidas por un puente disulfuro [1, 5, 10]. Además, la toxina suele estar asociada a otras proteínas (sin efecto terapéutico), como la hemaglutinina, en forma de complejos; esta asociación permite la protección de la parte activa frente a los ataques de la digestión [5]. La cadena pesada es la responsable de la fijación al receptor presináptico y es similar en todos los serotipos, al contrario que la cadena ligera –que es la fracción realmente tóxica [5]–.

En cuanto a su mecanismo de acción, la TXB lleva a cabo una lisis de las proteínas implicadas en la exocitosis de la acetilcolina a nivel de la unión neuromuscular, inhibiendo así la descarga colinérgica [12]. Esto ocurre en tres etapas después de que la toxina haya penetrado en el sistema vascular y haya sido transportada a las terminaciones nerviosas periféricas colinérgicas (incluyendo las uniones neuromusculares, las terminaciones nerviosas posganglionares parasimpáticas y los ganglios periféricos) [1, 5, 8, 9, 10]:

1. En primer lugar, la cadena H se fija rápida e irreversiblemente a los receptores diana de la superficie de las terminaciones nerviosas presinápticas colinérgicas.
2. A continuación se pasa a la fase de internalización (endocitosis) del complejo toxina - receptor y la liberación de la cadena L de la toxina al citosol.
3. Por último, dicha cadena L fragmenta la proteína SNAP-25 celular y de esta forma bloquea la liberación de acetilcolina, con su inmediata consecuencia: la parálisis muscular. El sistema nervioso central no resulta afectado.

## LA TOXINA BOTULÍNICA COMO TRATAMIENTO

El primer uso médico de la TXB (serotipo A) la llevó a cabo el oftalmólogo Alan Scott, en 1980, para tratar el estrabismo [5, 8, 10]. Nueve años más tarde, la *Food and Drug Administration* estadounidense aprobó su uso en el estrabismo, el blefarospasmo y los “trastornos del nervio facial” [8, 9]. Hoy en día, la TXB-A se emplea en muchas más afecciones, si bien las indicaciones aprobadas oficialmente en los distintos países siguen siendo pocas y muy concretas.

Aunque se ha demostrado que la TXB es en la mayoría de sus usos clínicos actualmente aceptados un tratamiento seguro y efectivo [1,10], debe ser siempre aplicada por médicos experimentados, con la técnica y las indicaciones adecuadas [13]. La técnica consiste en inyectar la toxina por vía intramuscular o subcutánea, según la indicación, en el músculo indicado. En ocasiones es necesario, e incluso recomendable, utilizar electromiografía como guía a la hora de inyectar la sustancia, para lograr una mayor precisión en el punto de aplicación [5, 8, 11].

El efecto terapéutico de la toxina es transitorio y limitado al área donde ésta es administrada. La recuperación de la función neuronal en dicha área ocurre gradualmente a medida que unas nuevas terminaciones nerviosas crecen y contactan con la membrana postsináptica, mientras el axón original se restablece [8, 9, 10, 14].

Así, el uso terapéutico de la TXB se basa en su propiedad para provocar, siempre localmente, parálisis flácida muscular y disfunción del sistema nervioso autónomo.

### Indicaciones terapéuticas de la toxina botulínica A autorizadas en España:

Siempre refiriéndonos al serotipo A, en España existen cuatro indicaciones para el uso, siempre hospitalario, de toxina botulínica [15]: el tratamiento del blefarospasmo, del espasmo hemifacial, de la tortícolis espasmódica y la corrección del estrabismo (en mayores de 12 años). También se usa en la espasticidad del brazo en pacientes que han sufrido un accidente cerebrovascular agudo y en la espasticidad asociada a pie equino en niños mayores de dos años con parálisis cerebral infantil [13]. Por lo tanto, el uso de la TXB-A con fines estéticos no está aún autorizada en nuestro país.

En Francia se ha autorizado además, aunque reservado al medio hospitalario, su uso en miopatías tiroideas recientes y en el tratamiento de las deformaciones dinámicas del pie equino en niños con espasticidad debida a alguna enfermedad motriz cerebral [5].

En el Reino Unido, el uso terapéutico de la toxina sólo está aprobado en el blefarospasmo, el espasmo hemifacial y la espasticidad [11].

### Especialidades farmacéuticas que contienen TXB-A:

Existen dos especialidades autorizadas, y sólo para uso hospitalario en España: Botox (Allergan) vial 100 UI (env 1) y Dysport (Ipsen Farma) vial 500U/3ml (env 2) [113, 15]. Una unidad se define como la dosis letal media (DL50) intraperitoneal en el ratón Swiss-Webster [8, 9, 10, 15].

Es importante tener presente que una unidad de Botox no es equivalente en potencia a una unidad de Dysport y, aunque diversos estudios han intentado buscar equivalencias proporcionales entre las dosis de ambos productos, no se ha llegado a ninguna conclusión clara [16]. Algunos autores opinan que es imposible llegar a establecer una relación exacta entre estas especialidades, puesto que tienen propiedades farmacodinámicas diferentes [2]. Incluso las técnicas de dilución y de aplicación difieren en los dos productos [10, 16].

### Efectos secundarios, contraindicaciones, interacciones, fallo terapéutico:

Los efectos secundarios más frecuentes tras la aplicación de la toxina son los derivados de la difusión local del fármaco a partir del punto de inyección, produciendo debilidad muscular (por ejemplo, ptosis, lagrimeo, fotofobia e irritación ocular cuando la toxina es inyectada en los músculos que rodean al ojo; o disfagia transitoria por la difusión de la toxina a los músculos orofaríngeos al tratar una tortícolis). Estos efectos se pueden minimizar utilizando técnicas electromiográficas como guía para lograr una mayor precisión en el momento de la inyección [5, 8], así como aplicando la máxima dosis efectiva en cada caso diluida en el mínimo volumen posible [10]. Se han visto, aunque con mucha menos frecuencia, efectos indeseados generalizados como hipersensibilidad o síntomas gripales [8, 11, 14, 17].

Las contraindicaciones a este fármaco se refieren a pacientes con enfermedades de la unión neuromuscular (como la miastenia gravis o el síndrome de Eaton-Lambert) [10], a mujeres embarazadas y a madres lactantes [5, 11, 13]. No se debe administrar en personas en tratamiento con aminoglucósidos (potencian su efecto) [10, 13], espectinomina, e incluso con polimixinas, tetraciclinas o relajantes musculares [14], así como con anticoagulantes [5].

Puesto que el bloqueo neuromuscular que la toxina produce es reversible, las inyecciones deben repetirse cada cierto tiempo, en general varios meses, según la indicación [8, 9, 10, 11, 13, 14]. Sin embargo, frecuentemente se produce una pérdida de respuesta a la TXB con el tiempo y las repetidas aplicaciones [8, 10, 11, 13, 16]. La justificación más frecuentemente dada para explicar este fenómeno es la formación de anticuerpos antitoxina en el sujeto, pero esta relación no siempre es absoluta y no es totalmente aceptada [8,16]. Estos pacientes podrían beneficiarse de inyecciones con otros serotipos de TXB, como el B, el C o el F, si bien el posible uso clínico de estas sustancias aún se está estudiando [9, 10, 11].

### ACTUALES Y POTENCIALES USOS TERAPÉUTICOS

Actualmente podrían existir más de 50 posibles indicaciones de aplicación de toxina botulínica, a pesar de que la gran mayoría de ellas no están justificadas por ensayos clínicos controlados ni por su seguridad de uso. Están hoy en curso numerosos estudios que pretenden demostrar con criterios de medicina basada en la evidencia las múltiples aplicaciones terapéuticas de la toxina botulínica. Además, existen trabajos científicos enfocados hacia la síntesis de toxinas botulínicas quiméricas por modificación de su cadena pesada, lo cual las haría específicas de un determina-

do receptor celular y, así, ejercer su acción enzimática sobre células diana concretas [5]. Enumeraremos los potenciales usos terapéuticos de la TXB-A según el grado actual de evidencia de efectividad demostrado.

- **Tratamiento con TXB recomendado [18]:** *Distonías focales* (distonía cervical –tortícolis-, blefaroespasma, calambre del escribiente, síndrome de Meige) [8, 11, 18, 19]. *Espasmo hemifacial* [5, 8, 11, 14, 15, 18, 19]. *Espasticidad focal*, tanto en adultos (deformidad equina espástica, espasticidad del músculo flexor de la rodilla, hemiespasticidad de miembros inferiores, espasticidad del flexor de la mano, del flexor de los dedos o del flexor del codo, espasticidad severa del aductor, brazo espástico no funcionante, tetraespasticidad extensora severa) [18, 20, 21] como en niños, sobre todo en los casos de espasticidad por parálisis cerebral, y siempre en combinación con tratamiento fisioterapéutico y un adecuado apoyo del entorno [5, 11, 17, 18, 22, 23]. *Hiperhidrosis focal* [5, 8, 9, 14, 18, 24, 25], sobre todo la axilar y la palmar, y en el síndrome de Frey (o de “sudoración gustatoria”); también se ha aplicado TXB en la hiperhidrosis plantar, frontal y del tronco, pero con peores resultados [5, 24]. *Arrugas faciales frontales* [5, 8, 11, 18]. *Fisura anal* [5, 9, 11, 18, 25, 26]. *Ptosis preventiva* (para proteger la córnea en pacientes con parálisis facial, en cuidados intensivos o con oftalmopatía tiroidea) [8, 11, 18, 27].
- **Tratamiento con TXB reservado a centros especializados y a casos individuales (hasta que se realicen nuevos y más amplios estudios que aseguren su eficacia y seguridad) [18]:** Con respecto a las *distonías*: calambre “calambre del músico”, distonía lingual, distonía generalizada, síndrome de La Tourette, discinecias tardías [8, 11, 18]. *Temblores*: temblor distónico, temblor por parkinsonismo, temblor esencial de la cabeza o de la mano [11, 18]. *Disfasias y problemas del lenguaje*: disfonía espasmódica [8, 11, 14, 18] (la Academia Americana de Otorrinolaringología - Cirugía de cara y cuello considera la TXB-A la primera opción terapéutica de esta afección [8], temblor vocal [8, 18], mioclonía del paladar [8, 14, 18], tics vocales, tartamudeo [8, 11, 18]. En oftalmología, estrabismo [11, 14, 15, 18, 27]. *Función glandular*: hipersalivación (sialorrea) [8, 18, 25], lagrimeo excesivo [18, 27], “ojo seco” [27], síndrome de las lágrimas de cocodrilo [18, 25, 27], síndrome de Ross [18]. *Dolor*: cefaleas tensionales y migrañas [8, 18, 28, 29] (donde la TXB-A ha demostrado tener efectos analgésicos que no se explican del todo por el bloqueo colinérgico), dolores de espalda, dolor postoperatorio, fibromialgia [18]. *Arrugas*: faciales en general [5, 11, 14, 18, 27], líneas de expresión faciales [5, 8, 9, 18, 27], asimetría facial consecutiva a parálisis facial [8, 18], arrugas por cicatrización y sinquinesias [8, 14, 18], cicatrices faciales [18]. En el *área urogenital*, disinergia del esfínter de músculo detrusor de la vejiga [18, 25], vejiga hiperrefléxica [25], uretrismo, espasticidad de esfínter, neovejiga, vaginismo [18, 11]. Con respecto al *sistema gastrointestinal*, se han tratado con TXB-A la acalasia [14, 18, 25, 26], la disfunción del esfínter de Oddi [18, 25, 26], el anismo [18, 25, 26], el síndrome puborrectal [8, 25], el estreñimiento propio del parkinsonismo (estreñimiento “de salida” y no de absorción) [18, 25]. En *otras áreas*, se ha utilizado la toxina para la *epi-*

*leptia partialis continua*; también puede provocar disminución de la producción de cerumen [7] y mejorar la rinitis [8, 14, 18] y el bruxismo [14, 18].

- **Usos de la TXB-A aún no valorables por la escasez de datos o de evidencia científica [18]:** distonía mandibular [8, 14, 18], distonía faríngea [11, 18], adyuvante en la curación de granulomas de las cuerdas vocales [6, 11, 14], oftalmopatía endocrina [11, 14, 18], nistagmo oscilatorio, parálisis del músculo oculomotor externo [18], hipertrofia del músculo masetero [14], codo de tenista [18], síndrome doloroso miofacial, obesidad (con inyecciones de TXB-A en las paredes gástricas, para lograr una mayor sensación de saciedad) [18], diversas enfermedades esofágicas (espasmo difuso esofágico [8, 25, 26], espasmo del esfínter esofágico superior [8, 18, 25], distonía cricofaríngea [8, 11, 18, 25, 26], afectación esofágica de la enfermedad de Chagas [18, 25, 26], estenosis hipertrófica pilórica infantil, espasmo pilórico postoperatorio y diverticulitis esofágica [18], enfermedad de Hirschprung [18, 26] y dolor torácico no cardiogénico [18].

## Referencias

1. Abrutyn E (1998). *Botulismo*. En: Faucia, Braunwold E, Isselbacher K, Wilson JD y cols. *Harrison. Principios de Medicina Interna*. 14ª Ed., McGraw-Hill Interamericana de España, Madrid. 1032-1034.
2. Murray Pr, Kobayashi Gs, Pfaller Ma, Rosenthal Ks (1997). *Bacilos anaerobios grampositivos esporulados*. En: *Microbiología médica*. 2ª Ed., Harcourt Brace de España, Madrid. 294-308.
3. Castellano Arroyo M (1998). *Intoxicaciones por alimentos*. En: Gisbert Calabuig J A. *Medicina legal y Toxicología*. Ed. Masson, Barcelona. 871-882.
4. Hobbs Bc, Roberts D (1993). *Bacterias y otros microbios que provocan intoxicaciones alimenticias e infecciones transmitidas por los alimentos*. En: *Higiene y toxicología de los alimentos*. 3ª Ed., Acribia, Zaragoza. 33-64.
5. Degouy A, Aubin A, Aubin F, Monnier G, Humbert Ph. (2000). *La toxine botulique en dermatologie*. *Ann Dermatol Venereol* 127(6-7): 638-42.
6. Johns N (1995). *Enfermedades transmitidas por alimentos, microorganismos y parásitos*. En: *Higiene de los alimentos*. Ed. Acribia, Zaragoza. 41-76
7. Lafont Ph, Lafont J (1990). *Toxicidad y contaminación bacteriana*. En: Derache J. *Toxicología y seguridad de los alimentos*. Ed. Omega, Barcelona. 193-202.
8. Blitzer A, Sulica L. (2001). *Botulinum toxin: basic science and clinical uses in otolaryngology*. *Laryngoscope* 111(2): 218-26.
9. Böni R, Kreyden O, Burg G. (2000). *Revival of the use of botulinum toxin: application in dermatology*. *Dermatology* 200(4): 287-91.
10. Huang W, Forter Ja, Rogachefsky A S. (2000). *Pharmacology of botulinum toxin*. *J Am Acad Dermatol* 43 (2 Pt 1):249-59.
11. Münchau A, Bhatia Kp (2000). *Uses of botulinum toxin injection in medicine today*. *BMJ* 320:161-5.
12. Lefkowitz Rj, Hoffman B B, Taylor P (1996). *Neurotransmisión*. En: Hardman Jg, Limbird Le, Molinoff Pb, Ruddon Rw, Goodman Gilman A. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 9ª Ed., McGraw-Hill Interamericana, México. 113-148.
13. Villa Lf (2001). *Medimecum. Guía de terapia farmacológica*. 6ª Ed., Adis. 549.

14. Walshe P, O'Hare D, Mcshane D, Timon C. (2001). *The use of botulinum toxin in otorhinolaryngology*. Hosp Med 62(4): 228-30.
15. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. Dirección electrónica: [www.portalfarma.com](http://www.portalfarma.com)
16. Guyer Bm (2001). *Some unresolved issues with botulinum toxin*. J Neurol 248 Suppl 1: 11-3.
17. Ubhi T. (2000). *Treatment of paediatric cerebral palsy with Dysport*. Hosp Med 61(10): 718-21.
18. Jost wh, Kohl A. (2001). *Botulinum toxin: evidence – based medicine criteria in rare indications*. J Neurol 248 Suppl 1: 39-44.
19. Jost WH, Kohl A (2001). *Botulinum toxin: evidence – based medicine criteria in blepharospasm and hemifacial spasm*. J Neurol 248 Suppl 1: 21-4.
20. Reichel G (2001). *Botulinum toxin for treatment of spasticity in adults*. J Neurol 248 Suppl 1: 25-7.
21. Pazos A, Pascual J (2001). *Farmacología de los movimientos anormales. Fármacos antiespásticos* En: FLÓREZ J. *Farmacología Humana*. Ed. Masson, Barcelona. 513-531.
22. Sánchez-Carpintero R, Narbona J (1997). *Toxina botulínica en parálisis cerebral infantil: resultados en 27 sujetos a lo largo de un año*. Rev Neurol 25(140): 531-5.
23. Kirschner J, Berweck S, Mall V. (2001). *Botulinum toxin treatment in cerebral palsy: evidence for a new treatment option*. J Neurol 248 Suppl 1: 31-3.
24. Naumann M (2001). *Evidence – Based medicine: botulinum toxin in focal hyperhidrosis*. J Neurol 248 Suppl 1: 31-3.
25. Naumann N, Just Wh, Toyka Kv. (1999). *Botulinum toxin in the treatment of neurological disorders of the autonomic nervous system*. Arch Neurol 56(8): 914-6.
26. Mandal A; Robinson Rj. (2001). *Indications and efficacy of botulinum toxin in disorders of the gastrointestinal tract*. Eur J Gastroenterol Hepatol 13(5):603-9.
27. Denniston A, Reuser T (2001). *The use of botulinum toxin in ophthalmology*. Hosp Med 62(8):477-9.
28. Göbel H, Heinze A, Heinze-Kuhn K, Aaustermann K. (2001). *Botulinum toxin A in the treatment of headache syndromes and pericranial pain syndromes*. Pain 91(3): 195-9.
29. Göbel H, Heinze-Kuhn K, Jost Wh. (2001). *Evidence – based medicine: botulinum toxin A in migraine and tension-type headache*. J Neurol 248 Suppl 1:34-8.