

Revista Cubana de *Reumatología*

Órgano oficial de la Sociedad Cubana de Reumatología y el Grupo Nacional de Reumatología
Volumen XVIII, Número 2; 2016 ISSN: 1817-5996
www.revreumatologia.sld.cu



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Tolerancia inmune al tratamiento con toxina botulínica tipo A

Immunotolerance in botulinum toxin type A treatment

Lorena Cárdenas Colín ^I, Luis Manuel Castillo Chávez ^{II}

^I Facultad de Medicina, UNAM. Ciudad de México DF, México.

^{II} Maestro en Ciencias Biológicas, Médico adscrito a Fundación Clínica Médica Sur. Laboratorio de inmunobiología, Departamento de Biología Celular y Tisular Facultad de Medicina. UNAM. Ciudad de México DF, México.

RESUMEN

Actualmente la neurotoxina botulínica tipo A es utilizada en el tratamiento de diversos trastornos relacionados con hiperactividad muscular localizada y para aplicación cosmética. La neurotoxina botulínica tipo A está conformada por un núcleo proteico de 150 kDa asociada a un complejo de hasta 6 proteínas auxiliares no tóxicas. En la respuesta al tratamiento crónico con neurotoxina botulínica tipo A se ha descrito una disminución entre los periodos de aplicación de la toxina, lo cual se puede expresar como una disminución del efecto de la neurotoxina botulínica tipo A. Se buscó identificar el mecanismo inmunológico, así como las principales moléculas participantes en el desarrollo de la tolerancia inmune hacia la neurotoxina botulínica tipo A. Se llevó a cabo una búsqueda sistematizada en las siguientes bases de datos: PubMed, Imbiomed y Scielo. Tomando en consideración artículos de investigación básica y clínica publicados después del año 2000, con especial interés en las publicaciones realizadas en los últimos 3 años. La disminución entre los periodos de aplicación de la neurotoxina botulínica tipo A, es generada por tolerancia inmune mediada principalmente por la acción biológica del complejo de histocompatibilidad tipo II, antígeno CD19 y la interleucina-6. Provocando un aumento en las dosis requeridas para mantener un tratamiento efectivo con neurotoxina botulínica tipo A, esto no significa una dependencia a la toxina botulínica. Significando una disminución en la efectividad de un tratamiento de enfermedades crónicas.

Palabras clave: Tolerancia inmune, toxina botulínica tipo A, CD19, complejo de histocompatibilidad II, interleucina-6.

ABSTRACT

Nowadays, botulinum toxin Type A is used for various disease treatment with hyperactivity muscular located and cosmetic using. botulinum toxin Type A is conformed to a protein nucleus of 150 kDa associated to a complex of 6 auxiliary non-toxic proteins. In the response to chronic treatment with botulinum toxin Type A a decrease of interlude time for toxin application has been described, which can be expressed as an effect decrease of botulinum toxin Type A. Immune mechanism was identified by a search, as well as main molecules involved in development of tolerance immune versus botulinum toxin Type A. Systematic research was performed in data bases as: Pubmed, Scielo, Imbiomed. Basics and clinical research articles published after 2000 were consulted. Focusing in publications with 4 or less years since their publication. The reduction of periodicity of dosage of BoNTA is induced by immune tolerance, it is principally mediated by major histocompatibility, antigen CD19 and interleukin-6. The immune tolerance induce an increases of dosage required for establish an effective treatment with botulinum toxin Type A; however, this does not mean a botulinum toxin dependence. Development of immune tolerance to treatments with BoNTA induces a low effectiveness of chronic treatment and evidence the necessity to researching new treatments that reduce the immune tolerance of botulinum toxin Type A. Meaning an effectivity reduces of a treatment to chronic diseases.

Keywords: Immune tolerance, botulinum toxin, Type A, CD19, MHC Class II; interleukin-6.

INTRODUCCIÓN

El uso terapéutico de la neurotoxina botulina se da en el tratamiento de diversos trastornos caracterizados por hiperactividad muscular localizada, migraña y para aplicación cosmética.^{1,2} Siendo principalmente el serotipo A y B (BoNTA, BoNTB) los serotipos más explotados comercialmente de los siete serotipos existentes (A-G).³ Comercialmente el serotipo A cuenta con una distribución en diversas presentaciones (Botox® de Allergan, Dysport® de Ipsen y Xeomin® de Merz).

El uso terapéutico y cosmético de la BoNTA ha incrementado significativamente después del año 2000 a nivel internacional, como lo refiere la American Society of Plastic Surgeons quien señala en el 2009 un incremento en el uso de la toxina botulínica en 1266 % respecto al año 2000.⁴ Sin embargo para América Latina no se tiene un registro estadístico sobre el uso de la BoNTA, estimándose en el 2004 para México más de 2 millones de casos de menores de 12 años con espasticidad que requerían el tratamiento con BoNTA con un periodo entre dosis de 80 a 140 días.⁵

Debido a que los padecimientos tratados con esta toxina son de carácter crónico, la frecuencia de la dosis es variable, desde 80 días hasta 6 meses para mantener su efecto terapéutico.^{3,5} La BoNTA presenta tropismo por la membrana neuronal de la unión neuromuscular dentro de la cual tiene lugar su efecto biológico de quimio denervación. La BoNTA está conformada por un núcleo proteico asociado a 6 proteínas no tóxicas auxiliares (NAP) de tipo hemaglutininas y no-hemaglutininas,² con la excepción de Xeomin®.⁶ El núcleo se conforma de una cadena ligera (Lc) y una cadena pesada (Hc); esta última es la que favorece la internalización de la toxina a la neurona, mientras la cadena ligera será la encargada del acoplamiento y fusión a las vesículas de acetilcolina.⁷ La falta de respuesta al tratamiento con BoNTA puede ser primaria, es decir, no hay efecto terapéutico desde

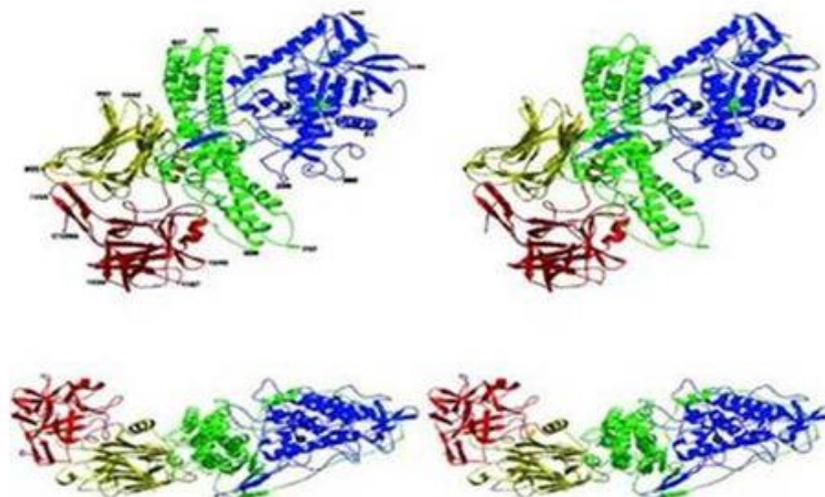
la primera dosis; o secundaria, que el efecto terapéutico disminuye paulatinamente conforme se administran dosis subsecuentes. Los factores causantes del fallo de la respuesta terapéutica con la BoNTA están relacionados al producto, desde el proceso de manufactura, fuente de la toxina, concentración de antígeno proteico, presencia de proteínas auxiliares (NAP); factores relacionados con el tratamiento como la dosis, intervalo entre inyecciones, exposición previa o vacunas; factores intrínsecos del paciente ya sea estado inmunológico o susceptibilidad a la toxina.¹⁻³ La falla al tratamiento con BoNTA por una tolerancia inmune, puede llegar a ser superior al 50 % después de 20 meses de tratamiento.²

Debido al incremento reciente en el uso de la BoNTA tanto con finalidades terapéuticas como estéticas; es indispensable conocer el mecanismo de tolerancia inmune generado por la toxina con la finalidad de establecer un adecuado esquema terapéutico, impulsar investigaciones farmacológicas con el objetivo de disminuir la tolerancia inmune y la búsqueda de tratamientos en sustitución de la BoNTA.

Toxina botulínica tipo A

Los fármacos a base de toxina botulínica tipo A están compuestos por el toxoide (neurotoxina y NAPs) y los excipientes (generalmente albúmina humana).⁶ El núcleo toxoide de la BoNTA está compuesto por dos cadenas de aminoácidos, una pesada (H_C, de 100 kDa) y una ligera (L_C, de 50 kDa) unidas por un enlace disulfuro, en conjunto tienen un peso de 150 kDa y son las responsables de la actividad biológica.³ El núcleo toxoide está asociada a otras seis proteínas auxiliares (NAPs): hemaglutininas (HA) y no-hemaglutininas (NHA); las NAPs le confieren una masa de 880 a 1000 kDa (Figura 1).^{2,3}

Figura 1. Cristalografía de la neurotoxina botulínica tipo A (BoNTA). Con el dominio catalítico en azul, el dominio de translocación en verde, el sub-dominio N-terminal en amarillo y el sub-dominio C-terminal en rojo. El zinc se muestra como una esfera gris.⁶



Mecanismo de acción

La toxina BoNTA se administra en forma inactiva; la BoNTA es activada mediante la liberación de las NAPs mediadas por actividad de proteasas tisulares (gangliósidos y proteína de vesícula sináptica 2 o SV2), esto a pH fisiológico.¹ Posterior a la activación de la toxina el núcleo proteico se dirigirá a la membrana neuronal en la unión neuromuscular por la que tiene tropismo.⁸

Su acción biológica comienza cuando la H_C se une a los receptores específicos de alta afinidad en la membrana de la terminal nerviosa colinérgica somática y autonómica en la unión neuromuscular; produciendo endocitosis de la toxina y el receptor.³ Una vez dentro de la vesícula, el pH intracelular suscita un cambio conformacional en la proteína que implica la translocación de la Lc hacia el citosol. La Lc presenta actividad de endopeptidasa dependiente de zinc escindiendo las proteínas N-ethylmaleimide-sensitive-factor attachment receptor (SNARE), las cuales están encargadas de transportar la vesícula con acetilcolina del retículo endoplásmico a la hendidura sináptica, bloqueando la transmisión neuromuscular.^{3,6} Este proceso resulta en una denervación muscular o glandular conocida como quimio denervación; reversible después de tres a seis meses.^{1,7}

Respuesta inmunológica a la toxina BoNTA

La respuesta inmunológica esta inducida principalmente por las NAPs asociadas a la BoNTA.⁹ El fenómeno de particular interés para la tolerancia inmune a la neurotoxina es la

proliferación de linfocitos B CD19+, producción de IL-6 y la estimulación en la producción de Ab.

IL-6 y Ab

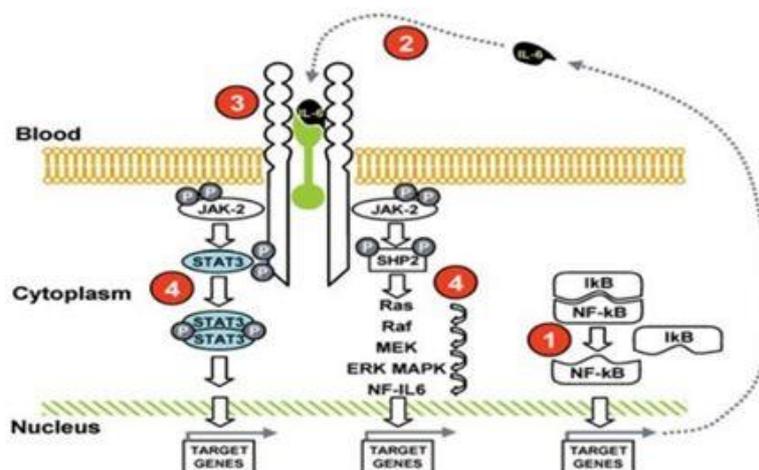
La IL-6 es una glucoproteína helicoidal cuya principal fuente son las células del sistema inmune, las células del endotelio vascular y los adipocitos. La expresión de IL-6 se modula por diversos factores, entre ellos el más importante es el factor nuclear kappa B (NF-κB) que al mismo tiempo puede ser regulado por la presencia de toxinas.¹⁰ El receptor de IL-6 (IL-6R, CD126) reconoce dos moléculas, la interleucina y una glucoproteína transductora de señales de 130 kDa (gp 130) que se encuentra adherida a la membrana celular; la unión de IL-6 a su receptor se transduce en dos vías diferentes (Figura 2)

La gp-130 activa la cascada de transducción asociada a las tirosin-quinasas (TYK2) y Janus (JAK1, JAK2), y los Signal Transducers and Activators of Transcription 1 y 3 (STAT1 y STAT3). Una vez unida IL-6 a IL-6R, gp-130 induce la transcripción de las citocinas supresoras de señalización (SOCS) que bloquean la generación de la señal STAT mediante un feedback negativo o retroalimentación negativa.¹¹

La vía de tyrosine phosphatase (SHP-2), cinasa extracelular regulada por señales (ERK), y proteína cinasa activada por mitógeno (MAPK)(9).

Figura 2. Vías de señalización de interleucina-6 (IL-6).

Se muestran dos vías diferentes: fosforilación de la cinasa Janus 2 (JAK2), fosforilación y dimerización del transductor y activador de señal 3 (STAT3) con la sucesiva translocación de STAT3 al núcleo y transactivación de los genes; activación de la vía Ras-Raf que induce la fosforilación de la cinasa activada por mitógeno (MAPK), cuyo sustrato es el factor nuclear IL-6 (NF-IL-6).⁷



La IL-6 tiene diversas funciones: es la principal estimuladora de la mayoría de las proteínas de fase aguda. Además en conjunto con la interleucina-1 (IL-1), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e interferón gamma (IFN- γ) regulan la termogénesis corporal; induce la expresión de ferritina, y en especial promueve la diferenciación y maduración de los linfocitos T y B (LT y LB); estimula la producción de inmunoglobulinas (Ig) por parte de las células B e inhibe la secreción de citocinas proinflamatorias.⁹

CD19 (B4)

El CD19 es una proteína co-estimuladora de superficie, miembro de la superfamilia de las Ig, expresada únicamente en LB y su función es reducir el umbral para iniciar la vía del receptor del linfocito B (BCR).¹²

El CD19 forma un complejo con los receptores de complemento tipo 2 (CR2) comúnmente conocido como cluster of differentiation 21 (CD21), CD81 (receptor diana para el antígeno antiproliferativo 1, TAPA-1) y leu-13 (CD225) para producir señales que actúan de forma sinérgica junto con las señales del complejo receptor de LB para el antígeno. Se cree que CD19 es la única molécula competente para la señalización intracelular. Además promueve la proliferación y supervivencia de los linfocitos B maduros.¹³ La unión del CD19 a BRC intensifica la actividad de MAPK, aumenta la liberación de calcio e incrementa la proliferación celular.¹²

Cuando un antígeno se une al BCR, como es el caso de las NAP's y la Hc de la BoNTA, ocurren dos procesos distintos: 1) transducción de señales al interior de la membrana; 2) internalización del antígeno. La vía de transducción de señales se lleva a cabo a través de una cascada de proteínas tirosina-cinasa que desembocan en la expresión de anticuerpos específicos, así mismo el flujo de calcio intracelular induce la expresión de moléculas de superficie involucradas en la colaboración de células B y T.¹⁴

La internalización del antígeno lleva a su procesamiento proteolítico, después los péptidos derivados del antígeno se unirán al MHC II para la presentación a las células T.¹⁴

MHC II

La respuesta inmunológica adaptativa suscitadas ante la neurotoxina botulínica son controladas por el MHC II, como se señaló previamente.³ Los acontecimientos involucrados en esta reacción se enumeran a continuación:

- Unión del núcleo proteico (generalmente la H_C) a una célula presentadora de antígeno y su interiorización en endosomas.
- Digestión proteolítica de la proteína en las vesículas para acoplarlas al MHC II.
- Biosíntesis y transporte del MHC II, previamente sintetizados en el retículo endoplasmático, a los endosomas.

Asociación del nuevo péptido recortado en las vesículas al MHC II.

Expresión de MHC II en la superficie celular de la célula presentadora de antígeno.

Presentación y activación de los linfocitos T CD4+.

Tolerancia inmune a la toxina BoNTA

La tolerancia inmune es el mecanismo que propicia un bloqueo parcial o completo de la acción de una molécula sobre el organismo, causado por su supresión inmunológica, ya sea a través de anticuerpos que la neutralizan o por acción de células del sistema inmunológico que la destruyen. En caso de BoNTA y BoNTB la tolerancia inmune se observa por primera vez entre la cuarta a octava aplicación, recordando que el intervalo de las dosis varía en cada enfermedad y grupo etario.^{5,15} La falta de respuesta puede ser parcial o total y dependiendo de su cronología se clasifica en dos:

Falta de respuesta primaria. Es aquella en la que no hay respuesta desde la primera aplicación. Puede deberse a dosificación incorrecta, susceptibilidad a la neurotoxina, o diagnóstico erróneo.²

Falta de respuesta secundaria. Es aquella en la cual el tratamiento previamente efectivo ya no produce el efecto deseado; situación en la que el paciente inicialmente respondió a la terapia pero perdió la sensibilidad al tratamiento después de varias dosis.¹⁶ Puede deberse a aplicación fuera de tiempo de segunda dosis, factores inherentes al paciente (eg. estrés), efecto placebo, la condición del paciente, o se desarrollan Ab neutralizantes.²

Por lo que hay diversos factores que pueden contribuir a la tolerancia inmune en la terapéutica con BoNTA, a continuación se citan los más relevantes:

Anticuerpos neutralizantes y no neutralizantes

Debido a la necesaria cronicidad en los tratamientos con toxina botulínica, los pacientes pueden desarrollar Ab detectables contra la toxina, llamados neutralizantes.¹⁶ Los anticuerpos neutralizantes y no neutralizantes representan la segunda causa de tolerancia inmune inducida por el tratamiento con BoNTA.² Esto se ha demostrado mediante pruebas serológicas en las que se ha cuantificado los anticuerpos contra la BoNTA y una respuesta específica de las células T.^{2,15} Sin embargo, no todos los Ab afectan la actividad biológica de la neurotoxina; como es el caso de los

Ab generados contra las NAPs, ya que estos anticuerpos no están dirigidos hacia la parte activa de la toxina.^{16,17}

Sin embargo, puede ocurrir que sean detectados Ab neutralizantes, pero que el tratamiento no pierda su efectividad; así mismo es posible que no se detecten Ab, pero el tratamiento no sea efectivo.¹⁶

Interesantemente, la producción de anticuerpos (Ab) contra un serotipo en específico no produce reacción cruzada a los otros serotipos. Sin embargo, la respuesta inmunológica generada por un serotipo, inducirá un efecto potenciador en la tolerancia inmune a otro serotipo, ya sea por aplicación individual de los serotipos o en conjuntos. Es decir, cuando se aplica el serotipo A individualmente generara una respuesta inmune específica contra este serotipo; sin embargo, al usar un serotipo tipo B, se desarrollará una respuesta inmunológica contra el segundo serotipo aplicado en menor tiempo e incluso con un mínimo de tres dosis; en caso de aplicación de los serotipos A y B en conjunto esto generara una reacción significativamente mayor que la aplicación individual de un serotipo.¹⁵

Dosis

Un aspecto fundamental en una de las sustancias más tóxicas conocidas como son las toxinas botulínicas (BoNTs), es el establecimiento de una dosis que tenga efecto terapéutico y que genere la menor respuesta antigénica posible.^{2,3} Sin embargo, posterior al desarrollo de tolerancia inmune, un aumento en la dosis de la BoNTA o la frecuencia de la inmunización generaría un aumento en la proliferación de Linfocitos T y B.^{3,15} Este fenómeno podría explicarse por el carácter dosis dependiente de las respuestas a antígenos proteicos; esto ha sido demostrado mediante el mapeo de epítomos, que ha mostrado que la respuesta de las células T al toxoide es dependiente de la dosis.³

Un caso especial, es el de los pacientes pediátricos en los que se reporta un alto porcentaje de tolerancia inmune, que puede estar relacionado con la edad o con la dosis por kg de peso, la cual suele ser más alta en este grupo etario; ya que en el grupo etario de 10 años las dosis son de 5 Unidades Internacionales (UI) por Kilogramo de peso o superiores en comparación con la dosis media de 3 UI por kilogramo administrado a el grupo etario de 12 años.²

Proteínas auxiliares

Diversos experimentos han demostrado que las proteínas HA1 y HA3b de las NAPs son responsables de acción coadyuvante.⁸ Sin embargo, dichas proteínas podrían participar en los mecanismos de tolerancia inmune, esto por favorecer el incremento en la formación de Ab anti-BoNTA,

mediados por el estímulo a la síntesis de interleucina-6 (IL-6), que lleva a un aumento en la población de células B CD19+.⁸

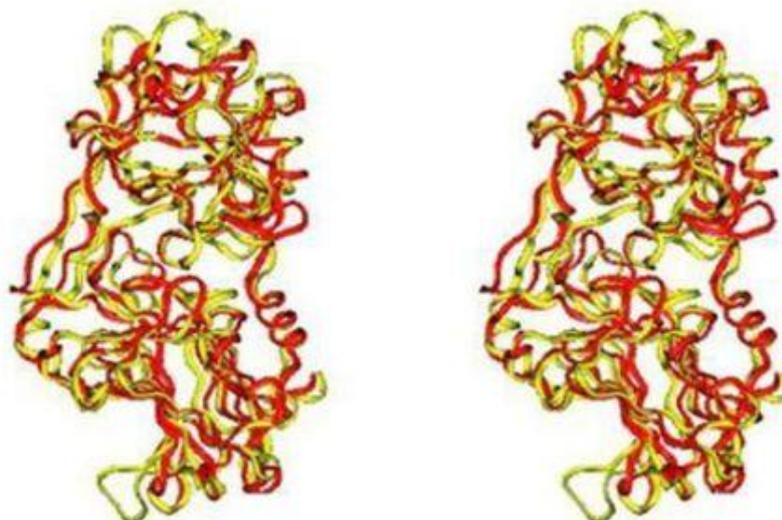
Restricción del MHC en la respuesta inmune

La predisposición genética para la susceptibilidad del MHC puede tener un rol en aquellos pacientes que desarrollan tolerancia inmune temprana al tratamiento, incluso a dosis bajas de la toxina. La respuesta de las células T y la producción de Ab por BoNTA están bajo control genético y la respuesta a cada epítipo de la misma proteína está regulada en diferentes zonas del DNA. Sin embargo, aún no se dispone de estudios que determinen si hay relación entre el desarrollo de Ab neutralizantes y el MHC del paciente.³

Toxina tetánica

La estructura de las BoNTs muestra una extensa homología estructural con la toxina tetánica (TeNT); sus regiones de reconocimiento antigénico se localizan en zonas estructuralmente equivalentes (Figura 3). Existe evidencia de una respuesta de reacción cruzada entre Ab anti-TeNT (similares a los presentes en la vacuna) y BoNTs A y B en humanos. Este efecto es conocido como el pecado antigénico original, es decir, una reacción cruzada donde la sensibilización de los linfocitos ante la vacuna anti-tetánica aumenta la respuesta inmunológica ante la BoNTA; caracterizada por la expresión de linfocitos T de memoria CD45RO, los cuales no se expresan en la tolerancia inmune a la BoNTA de forma regular.^{3,18}

Figura 3. Comparación en la estructura de los dominios de la unión en la neurotoxina botulínica tipo A (BoNTA) (rojo) y la toxina tetánica (amarillo).¹⁴



Secuencia de la estructura de aminoácidos

Se han secuenciado las regiones del dominio H_C que provocan una respuesta de las células T y B contra la toxina, así como el dominio de los sitios de reconocimiento antigénico. Resultado de estos estudios se encontró que respecto al reconocimiento de regiones en el dominio HC de la toxina se cumplen ciertas reglas, como: la existencia de ciertas regiones reconocidas por Ab que no pueden ser reconocidas por células T, mientras que las regiones que son exclusivas de reconocimiento de células T son escasas, por último se ha descrito un tercer tipo de regiones que pueden ser reconocidas tanto por el Ab como por células T. Es decir, las regiones reconocidas por Ab o células T anti-toxoide pueden coincidir o ser únicamente determinantes de las células B o T.^{3,14,15} Lo cual está en relación con los diversos mecanismos de tolerancia inmune a las BoNTs.

Cambio de serotipo

Cuando un paciente desarrolla tolerancia inmune a un serotipo de BoNT, puede aún responder al tratamiento con un serotipo diferente. Sin embargo, eventualmente esta respuesta cesará debido a que producen Ab contra el nuevo serotipo después de pocas dosis. Esto puede deberse a los Ab contra la primera toxina, actúan como cebadores en la respuesta inmune contra la segunda toxina para que Ab contra esta segunda toxina se desarrollen más rápidamente.^{3,14,15}

Proteínas auxiliares no tóxicas

Aun cuando las NAPs incrementan el tamaño de la BoNT de manera considerable, la evidencia clínica y preclínica sugiere que su presencia o ausencia no influencia la difusión hacia los tejidos diana.⁶ Además a un pH fisiológico (7.35) se disocian inmediatamente por lo que no se les atribuye efecto

terapéutico.⁸ Sin embargo, tienen un papel estabilizador y protector ante la degradación de la que puede ser objeto en la administración de la BoNTA vía oral, esta vía de administración tiene un elemento en contra, que es una disminución en la biodisponibilidad. En cambio, cuando la administración de la BoNT es vía parenteral, las NAPs parecen no ser necesarias.⁸

Su participación en la tolerancia inmune es indirecto; ya que aun cuando se ha demostrado que en 40% de los pacientes tratados con BoNT, se forman Ab contra NAPs, al ser estas proteínas no necesarias para la función de la toxina, se les llama Ab no-neutralizantes pues no interfieren con la acción terapéutica de la neurotoxina.^{3,6}

Sin embargo, las NAPs al actuar como estimuladoras en la producción de la IL-6 en los tejidos expuestos a la toxina, favorece la proliferación de linfocitos T, linfocitos B CD19; en consecuencia favorece la respuesta inmune y producción de Ab contra BoNT.^{3,9,15}

CONCLUSIONES

Durante el tratamiento con toxina botulínica serotipo A se puede desarrollar resistencia que tiene como causa la reacción del sistema inmunológico. Existen diversos factores que pueden suscitarla y promoverla, tales como los relacionados al producto (proceso de manufactura, fuente de la toxina, presencia de toxina inactiva, carga de Ag proteico y proteínas accesorias o excipientes), los relacionados al tratamiento (dosis e intervalo en el tratamiento) y los relacionados con el paciente (susceptibilidad, estado inmunológico). Los principales actores en la tolerancia inmune son: linfocitos B CD19+, la IL-6 y los linfocitos T CD4+.

Por lo que es importante la comprensión adecuada de la respuesta inmune ante el tratamiento con toxina tetánica, lo que implica que es de vital importancia el conocer y planear el uso de las BoTNs solo en casos que realmente lo requieran, con el objetivo de disminuir reacciones inmunológicas innecesarias, posibles reacciones cruzadas y tener la mayor eficiencia terapéutica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Atassi MZ. *Basic immunological aspects of botulinum toxin therapy. Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society.* 2004;19 Suppl 8:S68-84.
2. Morales MV PK, Zuluaga A. . *Conocimientos básicos sobre la toxina botulínica para una*

utilización terapéutica segura. Rev Col Med Fis Rehab. 2013;25(2):12.

3. Benecke R. *Clinical relevance of botulinum toxin immunogenicity. BioDrugs : clinical immunotherapeutics, biopharmaceuticals and gene therapy.* 2012;26(2):e1-9.
4. Dressler D. *Five-year experience with incobotulinumtoxinA (Xeomin((R))): the first botulinum toxin drug free of complexing proteins. European journal of neurology : the official journal of the European Federation of Neurological Societies.* 2012;19(3):385-9.
5. Oshima M, Deitiker PR, Jankovic J, Duane DD, Aoki KR, Atassi MZ. *Human T-cell responses to botulinum neurotoxin. Responses in vitro of lymphocytes from patients with cervical dystonia and/or other movement disorders treated with BoNT/A or BoNT/B. Journal of neuroimmunology.* 2011;240-241:121-8.
6. Lacy DB, Tepp W, Cohen AC, DasGupta BR, Stevens RC. *Crystal structure of botulinum neurotoxin type A and implications for toxicity. Nature structural biology.* 1998;5(10):898-902.
7. Frevert J, Dressler D. *Complexing proteins in botulinum toxin type A drugs: a help or a hindrance? Biologics : targets & therapy.* 2010;4:325-32.
8. Maggio M, Guralnik JM, Longo DL, Ferrucci L. *Interleukin-6 in aging and chronic disease: a magnificent pathway. The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences.* 2006;61(6):575-84.
9. Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Muller-Newen G, Schaper F. *Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. The Biochemical journal.* 2003;374(Pt 1):1-20.
10. Saavedra PG VG, González LA. *Interleucina-6: ¿amiga o enemiga? Bases para comprender su utilidad como objetivo terapéutico. Iatreia.* 2011;24(2):9.
11. Xu Y, Fairfax K, Light A, Huntington ND, Tarlinton DM. *CD19 differentially regulates BCR signalling*

- through the recruitment of PI3K. Autoimmunity.* 2014;47(7):430-7.
12. Otero DC, Rickert RC. CD19 function in early and late B cell development. II. CD19 facilitates the pro-B/pre-B transition. *Journal of immunology.* 2003;171(11):5921-30.
13. Depoil D, Fleire S, Treanor BL, Weber M, Harwood NE, Marchbank KL, et al. CD19 is essential for B cell activation by promoting B cell receptor-antigen microcluster formation in response to membrane-bound ligand. *Nature immunology.* 2008;9(1):63-72.
14. Naumann M, Boo LM, Ackerman AH, Gallagher CJ. Immunogenicity of botulinum toxins. *Journal of neural transmission.* 2013;120(2):275-90.
15. 15. Atassi MZ, Oshima M, Dolimbek BZ, Aoki KR. Antibody and T cell recognition of the light chain of botulinum neurotoxin A in two high-responder mouse strains. *Immunobiology.* 2012;217(1):1-7.

Los autores refieren no tener conflicto de intereses.

Recibido: 18 de abril de 2015

Aprobado: 12 de junio de 2016

Autor para la correspondencia: Dr. Castillo Luis Manuel. E-mail: luis.castillo.chavez@gmail.com

Laboratorio 3, Departamento de Biología Celular. Facultad de Medicina, UNAM. Circuito Escolar s/n, Ciudad Universitaria. Av. Universidad 3000. Coyoacán, 04510. Ciudad de México DF, México Teléfono: 5623-2191.