

Atendendo a solicitação do(a) autor(a),
o texto completo desta tese/dissertação
será disponibilizado somente a partir de
17/03/2024.

At the author's request, the full text of
this thesis/dissertation will not be
available until Mar 17, 2024.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

MARCELLE SIMÕES COELHO

**INFLUÊNCIA DA VITAMINA D NA FORÇA MUSCULAR E NA
DOSAGEM DE TOXINA BOTULÍNICA, ATRAVÉS DE
ELETROMIOGRAFIA DE SUPERFÍCIE, ESTUDOS DE IMAGEM 2D E
AVALIAÇÃO DE SATISFAÇÃO E AUTOESTIMA**

2023

MARCELLE SIMÕES COELHO

**INFLUÊNCIA DA VITAMINA D NA FORÇA MUSCULAR E NA DOSAGEM DE
TOXINA BOTULÍNICA, ATRAVÉS DE ELETROMIOGRAFIA DE SUPERFÍCIE,
ESTUDOS DE IMAGEM 2D E AVALIAÇÃO DE SATISFAÇÃO E AUTOESTIMA**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE BUCAL.

Área: Biomateriais. Linha de pesquisa: Estudo da biocompatibilidade de novos materiais de uso médico-odontológico.

Orientador: Prof. Assist. Dr. Rodrigo Máximo de Araújo

São José dos Campos

2023

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2023]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Coelho, Marcelle Simões

Influência da vitamina D na força muscular e na dosagem de toxina botulínica, através de eletromiografia de superfície, estudos de imagem 2D e avaliação de satisfação e autoestima / Marcelle Simões Coelho. - São José dos Campos : [s.n.], 2023.
77 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Aplicada à Odontologia - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2023.

Orientador: Rodrigo Máximo De Araújo.

1. Toxina botulínica. 2. Vitamina d. 3. Eletromiografia. 4. Autoestima. 5. Força muscular. I. De Araújo, Rodrigo Máximo, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Assist. Dr. Rodrigo Máximo de Araújo (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus São José dos Campos

Profª Assoc. Dra. Luciane Dias de Oliveira

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus São José dos Campos

Profª. Dra. Marcela Moreira Penteado

Faculdade Santo Antônio

Campus de Caçapava

São José dos Campos, 17 de março de 2023.

DEDICATÓRIA

Ao meu marido Alessandro de Oliveira Vieira pelo amor, por sempre estar ao meu lado pronto a me ajudar e por me dar força e coragem para continuar a seguir meus sonhos e nunca desistir.

Aos meus pais Gyselle Neumann Simões Coelho e Marco Antônio Simões Coelho por todo amor, dedicação, paciência e suporte ao longo de todos esses anos. Nada disso seria possível sem vocês ao meu lado!

Ao meu irmão Nicholas Simões Coelho por me aconselhar, ensinar e ajudar sempre que precisei.

Ao meu orientador e professores escolhidos para essa banca examinadora, os quais me inspiram e me motivam a conquistar meus sonhos e a sempre buscar ser uma profissional cada dia melhor.

AGRADECIMENTO

Agradeço ao meu professor orientador, Rodrigo Máximo de Araújo, por ter me guiado ao longo desses anos e ter me possibilitado viver experiências que levarei como ensinamento e serei eternamente grata.

Agradeço ao meu amigo e companheiro de mestrado, Gabriel Cirone Lopes, o qual sempre pude contar. Nunca mediu esforços para me apoiar e incentivar durante todo o desenvolvimento do projeto, além de se tornar um grande amigo ao longo do percurso.

A todos os professores que passaram pelo meu caminho durante o mestrado e puderam dedicar seu conhecimento e tempo para que eu pudesse desenvolver habilidades e me tornar como vocês um dia.

Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

Coelho MS. Influência da vitamina D na força muscular e na dosagem de toxina botulínica, através de eletromiografia de superfície, estudos de imagem 2D e avaliação de satisfação e autoestima [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2023.

O objetivo deste trabalho foi mensurar a força muscular do terço superior da face nos músculos frontais e corrugadores, antes e após a aplicação de toxina botulínica, com medição de controle antes da aplicação, imediatamente após a aplicação, 2 semanas, 5 semanas e 12 semanas. Além disso, foi avaliado o efeito da vitamina D na força muscular e a sua influência na toxina botulínica (TB). Vinte (20) pacientes foram selecionados e atendidos no ambulatório do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP. A força de contração muscular foi mensurada por um eletromiógrafo de superfície (EMG). Em cada tempo também foi avaliada a área das rugas por meio do software ImageJ. Foram aplicados questionários de satisfação em relação ao tratamento e autoestima dos pacientes. Para análise estatística utilizou-se o software *JAMOV* sendo considerado nível de significância de 5%. Todos os dados obtidos passaram por teste de normalidade *Shapiro-Wilk*. E de acordo com o resultado neste teste, Friedman test, Durbin-Conover ou Mann Whitney foram aplicados para obter-se os resultados. Em relação a EMG, através dos testes verificou-se que houve diferença estatística significativa entre os grupos de aferição do frontal, inicial x 2 semanas; inicial x 5 semanas; para o músculo corrugador, inicial x 2 semanas; inicial x 5 semanas; inicial x 12 semanas. Com relação a força muscular e a influência da vitamina D os dados avaliados obtiveram diferença estatística significativa ($p < .05$) apenas para o grupos do músculo frontal inicial de vitamina D > 30 ng/mL em comparação vitamina D < 30 ng/mL e que não houve diferença estatística significativa ($p < .05$) para nenhum dos grupos do músculo corrugador, no entanto a média bruta obtida no grupo dos pacientes com vitamina D > 30 ng/mL mostra-se maior do que no grupo de pacientes com vitamina D < 30 ng/mL em todos os tempos de acompanhamento em ambos músculos avaliados. Em relação às análises fotográficas do músculo frontal no ImageJ, observa-se que os pacientes com vitamina D > 30 ng/mL apresentaram uma média de melhora de 89,25% das rugas dinâmicas enquanto os pacientes com vitamina D < 30 ng/mL apresentaram média de melhora de 87,46% das rugas dinâmicas. Dessa forma observou-se que a vitamina D influencia na força muscular e na dosagem necessária de TB, em relação aos questionários constatou-se um alto índice de satisfação em relação ao tratamento e melhora significativa da autoestima dos pacientes participantes do estudo, além da melhora da qualidade da pele dos pacientes através das análises fotográficas.

Palavras-chave: toxina botulínica; vitamina d; eletromiografia; autoestima; força muscular; rugas.

ABSTRACT

Coelho MS. Influence of vitamin D on muscle strength and botulinum toxin dosage, through surface electromyography, 2D imaging studies and evaluation of satisfaction and self-esteem [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2023.

The objective of this work was to measure the muscle strength of the upper third of the face in the frontal and corrugator muscles, before and after the application of botulinum toxin, with control measurements before the application, immediately after the application, and at 2 weeks, 5 weeks and 12 weeks. . The effect of vitamin D on muscle strength and its influence on botulinum toxin (BT) were also evaluated. Twenty (20) patients were selected and treated at the outpatient clinic of the Institute of Science and Technology of São José dos Campos - UNESP. Muscle contraction strength was measured using surface electromyograph (EMG). At each follow-up time, the wrinkle area was also evaluated using the ImageJ software. Satisfaction questionnaires regarding the patients' treatment and self-esteem were applied. For statistical analysis, the JAMOV software was used, considering a significance level of 5%. The data obtained underwent the Shapiro-Wilk normality test. And according to the result in this test, Friedman test, Durbin-Conover or Mann Whitney were applied to obtain the results. Regarding the EMG, through the tests it was verified that there was a statistical difference between the groups of initial measurement x 2 weeks and 5 weeks in the frontal and initial x 2 weeks, 5 weeks and 12 weeks in the corrugator muscle and in relation to the frontal muscle there was statistically significant difference between baseline versus 2 weeks and 5 weeks. Regarding muscle strength and the influence of vitamin D, the evaluated data obtained a statistically significant difference ($p < .05$) only for the initial frontal muscle groups of vitamin D > 30 ng/mL compared to vitamin D < 30 ng/mL and that there was no statistically significant difference ($p < .05$) for any of the corrugator muscle groups, however the crude mean obtained in the group of patients with vitamin D > 30 ng/mL is higher than in the group of patients with vitamin D < 30 ng/mL at all follow-up times in both assessed muscles. Regarding the photographic analyzes of the frontal muscle in ImageJ, it is observed that patients with vitamin D > 30 ng/mL showed an average improvement of 89.25% of dynamic wrinkles, while patients with vitamin D < 30 ng/mL showed mean improvement of 87.46% of dynamic wrinkles. Regarding the questionnaires, a high level of satisfaction with the treatment and a significant improvement in the self-esteem of the patients participating in the study were observed.

Keywords: botulinum toxin; vitamin d; eletromyography; self esteem; muscle strength; wrinkles.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Toxina Botulínica.....	13
2.1.1 Panorama histórico.....	13
2.1.2 Mecanismo de ação	14
2.2 Eletromiografia de superfície (EMS)	15
2.3 Vitamina D.....	16
3 PROPOSIÇÃO	19
4 MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 Critérios de inclusão.....	20
4.2 Critérios de não inclusão	20
4.3 Critérios de exclusão.....	21
4.4 Eletromiografia de superfície (EMG)	22
4.4.1 Especificações do Eletromiógrafo	22
4.4.2 Posicionamento dos eletrodos de superfície.....	23
4.5 Análise da vitamina D	26
4.6 Análise da qualidade de pele	26
4.7 Questionário de satisfação e autoestima	27
4.8 Análises fotográficas Image J.....	29
4.9 Análise Estatística.....	30
5 RESULTADOS	31
5.1 Eletromiografia de Superfície - Efetividade Toxina Botulínica	31
5.2 Análise da força muscular - Influência dosagem Vitamina D	36
5.3 Avaliação fotográfica através do Software ImageJ.....	53
5.4 Análise dos questionários de autoestima e satisfação.....	54
6 DISCUSSÃO	56
6.1 Toxina Botulínica.....	56
6.2 Eletromiografia de superfície.....	58
6.3 Vitamina D.....	60
6.4 Avaliação fotográfica	63
6.5 Questionários	65

7 CONCLUSÃO	66
REFERÊNCIAS	67
ANEXO	73

1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos séculos, os padrões de beleza mudaram devido ao aumento da consciência sobre a estética. A juventude, apesar do avanço da idade, inclui uma pele lisa e charmosa sem dobras cutâneas, perda de volume e flacidez da pele (Kattimani et al., 2019). O desejo de manter uma aparência bela e jovem atravessa todas as questões raciais, culturais e barreiras econômicas. Devido ao advento de procedimentos estéticos minimamente invasivos, os quais proporcionam preços mais acessíveis e exigem menos tempo de inatividade, essas metas podem ser mais facilmente alcançadas (Konda et al., 2013).

Devido ao aumento considerável da expectativa de vida, há cada vez mais pessoas idosas e ainda, paradoxalmente, qualquer sinal visível de envelhecimento é impiedosamente rejeitado pela sociedade. Vivemos em uma época em que a qualidade de vida é essencial, todos querem ter uma aparência jovem e continuar assim tanto quanto possível, para seu bem-estar pessoal e também por necessidade profissional, já que o mundo do trabalho exclui os idosos cada vez mais cedo (Beylot, 2019). Essa crescente demanda por tratamentos cosméticos para reduzir as rugas e flacidez da face tem estimulado a busca da literatura por técnicas não cirúrgicas para realçar a beleza facial. O avanço no uso de toxinas é uma ciência emergente para o embelezamento de um rosto (Kattimani et al., 2019).

De acordo com a Sociedade Internacional de Cirurgia Plástica, o Brasil ocupa o 2º lugar no ranking de procedimentos estéticos não cirúrgicos realizados em todos os países, indicando, desde 2018, o uso da toxina botulínica (TB) como o tratamento estético que mais cresceu no mundo (Nascimento et al., 2021).

A TB é uma neurotoxina produzida por uma bactéria anaeróbica Gram positiva, chamada *Clostridium botulinum*. Este organismo apresenta sete tipos sorológicos (A-G), sendo o tipo A o mais potente, específico e de efeito prolongado. A utilização da TB do tipo A ocorre por conta do seu rápido crescimento em cultura e cristalização em uma forma estável, permitindo a purificação de forma eficaz, assim proporcionando maior duração dos efeitos terapêuticos (Oliveira et al., 2020). Todos os subtipos são estruturalmente muito semelhantes e em todos há a inibição da acetilcolina, porém, cada cepa produz

uma neurotoxina com toxicidade específica (Dressler et al., 2010). No entanto, dentre as sete neurotoxinas existentes, os subtipos A e B são utilizados na prática clínica, por serem as mais potentes (Majid, 2010).

A TB inibe a liberação de acetilcolina na junção neuromuscular. A injeção de pequenas quantidades de TB em músculos hiperativos específicos causa relaxamento muscular localizado que suaviza a pele subjacente e reduz as rugas (Santos et al., 2016). Essas rugas são desencadeadas pela perda de colágeno e pelo aumento das atividades dos músculos. A sua formação apresenta dois estágios, o primeiro deles é quando ele aparece com movimento, chamada de ruga dinâmica e quando ela fica visível, sem a necessidade de expressão facial, é chamada de ruga estática (Small, 2014). É possível verificar visualmente a eficiência no desaparecimento temporário das rugas dinâmicas após a utilização da TB. A recuperação deste efeito ocorre pelo surgimento de terminais nervosos e formação de novas fendas sinápticas responsáveis pela contração muscular (Morais et al., 2019).

A dosagem e a colocação da injeção são baseadas na análise dos músculos alvo e dos músculos adjacentes, além dos tecidos moles e duros associados. A indicação para seleção da toxina botulínica como intervenção primária é a contração muscular excessiva, principal etiologia da desarmonia facial a ser tratada (Gart et al., 2016).

A redução parcial da função muscular é vista a partir do terceiro dia após a aplicação da TB, com redução máxima visível duas semanas após a aplicação (Small, 2014). A duração típica do efeito da TB é de 3 a 4 meses, dependendo de vários fatores, incluindo dose, concentração, técnica de injeção, resposta imune do paciente e outros (Fundaram et al., 2016). O tratamento subsequente é recomendado quando a contração muscular é visível na área de tratamento antes que as linhas faciais voltem a sua aparência pré-tratamento (Small, 2014).

Bischoff-Ferrari (2012) e Tomlinson (2015) demonstraram que existe uma correlação entre a suficiência de vitamina D e a função muscular ideal. O aumento dos níveis de vitamina D podem reduzir a inflamação, a dor e a miopatia enquanto aumenta a síntese de proteína muscular, a concentração de ATP e a força (Gart et al., 2016; Ginde et al., 2009). Após a ativação para 1,25 hidroxivitamina D3 —1,25 (OH) D, ou calcitriol — vitamina D - a expressão do gene responsivo é alterada,

com mais de 1000 genes responsivos à vitamina D identificados. Esses genes afetam a síntese de proteína muscular, força muscular, tamanho do músculo, tempo de reação, equilíbrio, coordenação, resistência, inflamação e imunidade. (Ginde et al., 2009)

A definição aceita de suficiência de vitamina D é 25-hidroxivitamina D3, (25 (OH) D) é de 20 a 30 ng/mL. No entanto, foi relatado que mais de um bilhão de pessoas em todo o mundo são deficientes em vitamina D, com 36-69,9% dos jovens e população adulta sofrem dessa deficiência (Shuler et al., 2012). Além disso, as taxas dessa deficiência dobraram de 1994 a 2004 com vários fatores responsáveis, incluindo evitar o sol, usar protetor solar e aumento das taxas de obesidade causando sequestro desta vitamina solúvel em gordura (Looker et al., 2008).

As doses para o tratamento variam dependendo da deficiência e resultados que se deseja obter. É relatado que concentrações de 25(OH)D superiores a 12 ng/mL seriam suficientes para se evitar o raquitismo e a osteomalácia (Bischoff-Ferrari et al., 2012), assim como para normalizar a absorção intestinal de cálcio. Porém, quando se deseja diminuir fraturas é necessário concentrações acima de 24 ng/mL (Maeda et al., 2013). Já para evitar o aparecimento de hiperparatireoidismo secundário, concentrações acima de 30 ng/mL são desejáveis (Aloia et al., 2010). Portanto, especialmente durante o tratamento da osteoporose, recomenda-se que a 25(OH)D plasmática esteja acima de 30 ng/mL.

Uma forma que tem sido utilizada para avaliar as respostas neuromusculares em várias atividades de indivíduos saudáveis e para pesquisar possíveis alterações devido à patologia ou durante alguma reabilitação muscular é a eletromiografia (EMG). O sinal EMG representa as características da função muscular e fornece informações sobre atividades musculares. Analisar este sinal pode fornecer aos profissionais da área da saúde informações de diagnóstico que podem servir como uma ferramenta útil ao decidir um plano de tratamento adequado (Gerogios et al., 2019). Todas essas descobertas, combinadas com a avaliação clínica, podem fornecer evidências úteis para acompanhar os pacientes ao longo do tempo e planejar um tratamento de reabilitação específico e obter a melhor performance para cada área de atuação (Papagiannis et al., 2016).

7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que a dosagem de vitamina D pode influenciar aumentando a força muscular dos indivíduos, na região estudada, a qual pode ser validada através da eletromiografia de superfície e devido a necessidade de uma dosagem maior de TB naqueles pacientes com vitamina D > 30 ng/mL para apresentarem resultados satisfatórios como do grupo antagonista. Entretanto, em relação à durabilidade do efeito do tratamento, não observou-se abreviação de efeito em nenhum dos grupos, mesmo necessitando de uma dosagem um pouco maior, a duração em ambos os grupos demonstrou-se satisfatória.

Foi possível avaliar também a melhora na qualidade da pele dos pacientes através das imagens obtidas ao longo do tratamento e relacionar a diminuição tanto na área das rugas estáticas quanto na área das rugas dinâmicas no músculo frontal dos pacientes em relação à área obtida antes do tratamento, confirmando a efetividade da TB.

Por fim, a análise dos questionários constatou um alto índice de satisfação em relação ao tratamento e melhora significativa da autoestima dos pacientes participantes do estudo.

Diante dos resultados apresentados e discutidos neste trabalho, conclui-se que a aplicação da TB é efetiva para o tratamento estético em terço superior da face, avaliando tanto a força muscular durante a eletromiografia e pela análise fotográfica da área das rugas através do ImageJ.

REFERÊNCIAS

Abramo AC. Muscle insertion and strength of the muscle contraction as guidelines to enhance duration of the botulinum toxin effect in the upper face. *Aesthetic Plast Surg*. 2018 Jul 9;42(5):1379–87.

Aesthetic Plastic Surgery National Databank Statistics 2020–2021, *Aesthet Surg J*. 2022; 42 (Suppl1): 1–18. doi: <https://doi.org/10.1093/asj/sjac116>

Aloia JF, Chen DG, Yeh JK, Chen H. Serum vitamin D metabolites and intestinal calcium absorption efficiency in women. *Am J Clin Nutr*. 2010 Oct;92(4):835-40. doi: 10.3945/ajcn.2010.29553. Epub 2010 Jul 21. PMID: 20660223; PMCID: PMC2937584.

Altamiro F. Botulinum toxin for facial harmony. 1. ed. Nova Odessa: Quintessence Publishing; 2018.

Basavaraj KH, Navya MA, Rashmi R. Relevance of psychiatry in dermatology: Present concepts. *Indian J Psychiatry*. 2010 Jul;52(3):270-5. doi: 10.4103/0019-5545.70992. PMID: 21180416; PMCID: PMC2990831.

Beylot C. Vieillissement cutané – Vieillissement facial global : orientation thérapeutique [Skin ageing-General features of facial ageing and therapeutic choices]. *Ann Dermatol Venereol*. 2019 Jan;146(1):41-74. French. doi: 10.1016/j.annder.2018.10.015. Epub 2018 Dec 20. PMID: 30581032.

Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr*. 2006 Jul;84(1):18-28. doi: 10.1093/ajcn/84.1.18.

Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Orav EJ, Lips P, Meunier PJ, Lyons RA, et al. A pooled analysis of vitamin D dose requirements for fracture prevention. *N Engl J Med*. 2012 Jul 5;367(1):40-9. doi: 10.1056/NEJMoa1109617.

Bolton MA, Lobben I, Stern TA. The impact of body image on patient care. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*. 2010;12(2):PCC.10r00947. doi: 10.4088/PCC.10r00947blu. PMID: 20694111; PMCID: PMC2911009.

Buitrago C, Boland R, de Boland AR. The tyrosine kinase c-Src is required for 1,25(OH)₂-vitamin D₃ signalling to the nucleus in muscle cells. *Biochim Biophys Acta*. 2001 Dec 19;1541(3):179-87. doi: 10.1016/s0167-4889(01)00142-2. PMID: 11755212.

Buitrago CG, Arango NS, Boland RL. 1 α ,25(OH)₂D₃-dependent modulation of Akt in proliferating and differentiating C2C12 skeletal muscle cells. *J Cell Biochem*. 2012 Apr;113(4):1170-81. doi: 10.1002/jcb.23444. PMID: 22095470.

Ceglia L. Vitamin D and skeletal muscle tissue and function. *Mol Aspects Med.* 2008 Dec;29(6):407-14. doi: 10.1016/j.mam.2008.07.002. Epub 2008 Aug 8. PMID: 18727936.

Cereser ND, Costa FMR, Rossi Júnior OD, Silva DAR da, Sperotto V da R. Botulismo de origem alimentar. *Ciênc. rural.* 2008;38(1):280–7.

Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, Arnaud S, Galan P, Hercberg S, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int.* 1997;7(5):439-43. doi: 10.1007/s001980050030. PMID: 9425501.

Chiang CM, Ismaeel A, Griffis RB, Weems S. Effects of vitamin D supplementation on muscle strength in athletes: a systematic review. *J Strength Cond Res.* 2017 Feb;31(2):566-574. doi: 10.1519/JSC.0000000000001518. PMID: 27379960.

Curry OB, Basten JF, Francis MJ, Smith R. Calcium uptake by sarcoplasmic reticulum of muscle from vitamin D-deficient rabbits. *Nature.* 1974 May 3;249(452):83-4. doi: 10.1038/249083a0. PMID: 4833235.

de Paiva A, Meunier FA, Molgó J, Aoki KR, Dolly JO. Functional repair of motor endplates after botulinum neurotoxin type A poisoning: biphasic switch of synaptic activity between nerve sprouts and their parent terminals. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999 Mar 16;96(6):3200-5. doi: 10.1073/pnas.96.6.3200. PMID: 10077661; PMCID: PMC15919.

Dressler D, Saberi FA, Barbosa ER. Botulinum toxin: mechanisms of action. *Arq Neuropsiquiatr.* 2005 Mar;63(1):180-5. doi: 10.1590/s0004-282x2005000100035. Epub 2005 Apr 13. PMID: 15830090.

Dressler D, Wohlfahrt K, Meyer-Rogge E, Wiest L, Bigalke H. Antibody-induced failure of botulinum toxin a therapy in cosmetic indications. *Dermatol Surg.* 2010 Dec;36 Suppl 4:2182-7. doi: 10.1111/j.1524-4725.2010.01710.x. PMID: 21134050.

Ferreira MC, Salles AG, Gimenez R, Soares MF. Complications with the use of botulinum toxin type a in facial rejuvenation: report of 8 cases. *Aesthetic Plast Surg.* 2004 Nov-Dec;28(6):441-4. doi: 10.1007/s00266-004-0031-7. Epub 2004 Dec 2. PMID: 15580431.

Floyd M, Ayyar DR, Barwick DD, Hudgson P, Weightman D. Myopathy in chronic renal failure. *Q J Med.* 1974 Oct;43(172):509-24. PMID: 4462721.

Gart MS, Gutowski KA. Overview of botulinum toxins for aesthetic uses. *Clin Plast Surg.* 2016 Jul;43(3):459–71.

Gelli DS, Jakabi M, Souza Ad. Botulism: a laboratory investigation on biological and food samples from cases and outbreaks in Brazil (1982-2001). *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2002 Nov-Dec;44(6):321-4. doi: 10.1590/s0036-46652002000600005. PMID: 12532215.

Ginde AA, Liu MC, Camargo CA Jr. Demographic differences and trends of vitamin D insufficiency in the US population, 1988-2004. *Arch Intern Med*. 2009 Mar 23;169(6):626-32. doi: 10.1001/archinternmed.2008.604. PMID: 19307527; PMCID: PMC3447083.

Gomes do Nascimento C, Garcia Valois Tavares M, Dos Santos Nunes M, Lucena Alves L, Barbosa Barreto MS, Isabelle Santos I, et al. O uso de toxina botulínica no tratamento de rugas dinâmicas. *Saúde Colet*. 2021 Jan 5;11(60):4714–25.

Hankins CL, Strimling R, Rogers GS. Botulinum A toxin for glabellar wrinkles. Dose and response. *Dermatol Surg*. 1998 Nov;24(11):1181-3. doi: 10.1111/j.1524-4725.1998.tb04095.x. PMID: 9834736.

Hexsel D, Cartier H, Hedén P, Delmar H, Bergentz P, Camozzato F, et al. Efficacy, safety, and subject satisfaction after abobotulinumtoxin A treatment of upper facial Lines. *Dermatol Surg*. 2018 Dec;44(12):1555-1564. doi: 10.1097/DSS.0000000000001679. PMID: 30204739.

Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Jul;96(7):1911-30. doi: 10.1210/jc.2011-0385. Epub 2011 Jun 6.

Honigman R, Castle DJ. Aging and cosmetic enhancement. *Clin Interv Aging*. 2006;1(2):115-9. doi: 10.2147/cia.2006.1.2.115. PMID: 18044108; PMCID: PMC2695163.

Irani PF. Electromyography in nutritional osteomalacic myopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1976 Jul;39(7):686-93. doi: 10.1136/jnnp.39.7.686. PMID: 993799; PMCID: PMC492404.

Kandhari R, Kaur I, Gupta J, Al-Niaimi F. microdroplet botulinum toxin: a review. *J Cutan Aesthet Surg*. 2022 Apr-Jun;15(2):101-107. doi: 10.4103/JCAS.JCAS_162_21. PMID: 35965899; PMCID: PMC9364467.

Kattimani V, Tiwari RVC, Gufran K, Wasan B, Shilpa PH, Khader AA. Botulinum toxin application in facial esthetics and recent treatment indications (2013-2018). *J Int Soc Prev Community Dent*. 2019 Mar-Apr;9(2):99-105. doi: 10.4103/jispcd.JISPCD_430_18. Epub 2019 Apr 12. PMID: 31058058; PMCID: PMC6489509.

Konda D, Thappa DM. Age reversing modalities: an overview. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2013 Jan-Feb;79(1):3-8. doi: 10.4103/0378-6323.104663. PMID: 23254723.

Kouris A, Platsidaki E, Christodoulou C, Efstathiou V, Markantoni V, Armyra K, et al. Patients' self-esteem before and after chemical peeling procedure. *J Cosmet Laser Ther*. 2018 Aug;20(4):220-222. doi: 10.1080/14764172.2017.1400168. Epub 2017 Dec 29. PMID: 29286838.

Lips P, Duong T, Oleksik A, Black D, Cummings S, Cox D, et al. A global study of vitamin D status and parathyroid function in postmenopausal women with osteoporosis: baseline data from the multiple outcomes of raloxifene evaluation clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Mar;86(3):1212-21. doi: 10.1210/jcem.86.3.7327. Erratum in: *J Clin Endocrinol Metab* 2001 Jul;86(7):3008. PMID: 11238511.

Looker AC, Pfeiffer CM, Lacher DA, Schleicher RL, Picciano MF, Yetley EA. Serum 25-hydroxyvitamin D status of the US population: 1988-1994 compared with 2000-2004. *Am J Clin Nutr*. 2008 Dec;88(6):1519-27. doi: 10.3945/ajcn.2008.26182. PMID: 19064511; PMCID: PMC2745830.

Maeda SS, Saraiva GL, Kunii IS, Hayashi LF, Cendoroglo MS, Ramos LR, et al. Factors affecting vitamin D status in different populations in the city of São Paulo, Brazil: the São Paulo vitamin D evaluation study (SPADES). *BMC Endocr Disord*. 2013 Apr 29;13:14. doi: 10.1186/1472-6823-13-14. PMID: 23627369; PMCID: PMC3645955.

Majid OW. Clinical use of botulinum toxins in oral and maxillofacial surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2010 Mar;39(3):197-207. doi: 10.1016/j.ijom.2009.10.022. Epub 2009 Dec 2. PMID: 19959337.

Molina B, Grangier Y, Mole B, Ribe N, Martín Diaz L, Prager W, et al. Patient satisfaction after the treatment of glabellar lines with botulinum toxin type A (Speywood Unit): a multi-centre European observational study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015 Jul;29(7):1382-8. doi: 10.1111/jdv.12881. Epub 2014 Dec 12. PMID: 25495499.

Monteiro PM. Avaliação eletromiográfica dos músculos masseter e temporal e cefalométrica em norma lateral de crianças submetidas à expansão maxilar com o aparelho quadri-hélice [dissertação]. Ribeirão Preto (SP): Universidade de São Paulo (USP), Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto; 2007.

Morais AM de, Santos IR dos, Schifino LNCO. Análise quantitativa do tratamento de pacientes com rugas dinâmicas faciais utilizando toxina botulínica tipo "A" em uma clínica de biomedicina estética em Vitória da Conquista-Bahia. *REMAS*. 2019 Nov 29;9(4):87-103.

Moreira CA, Ferreira CEDS, Madeira M, Silva BCC, Maeda SS, Batista MC, et al. Reference values of 25-hydroxyvitamin D revisited: a position statement from the brazilian society of endocrinology and metabolism (SBEM) and the brazilian society of clinical pathology/laboratory medicine (SBPC). *Arch Endocrinol Metab*. 2020 Aug;64(4):462-478. doi: 10.20945/2359-3997000000258.

Panicker JN, Muthane UB. Botulinum toxins: pharmacology and its current therapeutic evidence for use. *Neurol India*. 2003 Dec;51(4):455-60. PMID: 14742921.

Papagiannis GI, Triantafyllou AI, Roumpelakis IM, Papagelopoulos PJ, Babis GC. Gait analysis methodology for the measurement of biomechanical parameters in total

knee arthroplasties. A literature review. *J Orthop*. 2018 Feb 2;15(1):181-185. doi: 10.1016/j.jor.2018.01.048. PMID: 29657464; PMCID: PMC5895909.

Parfitt AM, Gallagher JC, Heaney RP, Johnston CC, Neer R, Whedon GD. Vitamin D and bone health in the elderly. *Am J Clin Nutr*. 1982 Nov;36(5 Suppl):1014-31. doi: 10.1093/ajcn/36.5.1014. PMID: 6765068.

Rosen CJ, Gallagher JC. The 2011 IOM report on vitamin D and calcium requirements for north america: clinical implications for providers treating patients with low bone mineral density. *J Clin Densitom*. 2011 Apr-Jun;14(2):79-84. doi: 10.1016/j.jocd.2011.03.004. PMID: 21787514.

Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 dietary reference intakes for calcium and vitamin D: what dietetics practitioners need to know. *J Am Diet Assoc*. 2011 Apr;111(4):524-7. doi: 10.1016/j.jada.2011.01.004. PMID: 21443983.

Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods*. 2012 Jul;9(7):671-5. doi: 10.1038/nmeth.2089. PMID: 22930834; PMCID: PMC5554542.

Schroeder AB, Dobson ETA, Rueden CT, Tomancak P, Jug F, Eliceiri KW. The ImageJ ecosystem: open-source software for image visualization, processing, and analysis. *Protein Sci*. 2021 Jan;30(1):234-249. doi: 10.1002/pro.3993. Epub 2020 Nov 20. PMID: 33166005; PMCID: PMC7737784.

Shuler FD, Wingate MK, Moore GH, Giangarra C. Sports health benefits of vitamin d. *Sports Health*. 2012 Nov;4(6):496-501. doi: 10.1177/1941738112461621. PMID: 24179588; PMCID: PMC3497950.

Small R. Botulinum toxin injection for facial wrinkles. *Am Fam Physician*. 2014 Aug 1;90(3):168-75. PMID: 25077722

Sposito MMM. Toxina Botulínica do Tipo A: mecanismo de ação. *Acta Fisiatrica*. 2009 Mar;16(1):25–37. doi: 10.11606/issn.2317-0190.v16i1a103037

Sundaram H, Signorini M, Liew S, Trindade de Almeida AR, Wu Y, Vieira Braz A, et al. Global aesthetics consensus group. Global aesthetics consensus: botulinum toxin type A--evidence-based review, emerging concepts, and consensus recommendations for aesthetic use, including updates on complications. *Plast Reconstr Surg*. 2016 Mar;137(3):518e-529e. doi: 10.1097/01.prs.0000475758.63709.23. PMID: 26910696; PMCID: PMC5242214.

Sättilä H. Over 25 years of pediatric botulinum toxin treatments: what have we learned from injection techniques, doses, dilutions, and recovery of repeated injections? *Toxins (Basel)*. 2020 Jul 6;12(7):440. doi: 10.3390/toxins12070440. PMID: 32640636; PMCID: PMC7404978.

Ting PT, Freiman A. The story of clostridium botulinum: from food poisoning to botox. Clin Med (Lond). 2004 May-Jun;4(3):258-61. doi: 10.7861/clinmedicine.4-3-258. PMID: 15244362; PMCID: PMC4953590.

Wenzel RG. Pharmacology of botulinum neurotoxin serotype A. Am J Health Syst Pharm. 2004 Nov 15;61(22 Suppl 6):S5-10. doi: 10.1093/ajhp/61.suppl_6.S5. PMID: 15598004.