



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).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Toxina Botulínica

2.1.1 Panorama histórico

A injeção de toxina botulínica A para tratamento de rugas faciais é o procedimento cosmético mais realizado nos Estados Unidos e é um dos procedimentos de entrada mais comuns para os clínicos que buscam incorporar tratamentos estéticos em sua prática. A toxina botulínica tem sido usada há mais de 20 anos para tratar uma variedade de condições, incluindo blefaroespasma, estrabismo, distonia cervical, enxaqueca, hiperidrose e espasticidade muscular (Small et al., 2014).

Os primeiros casos de intoxicação por toxina botulínica foram registrados entre 1817 e 1820, porém apenas em 1822 que Justinus Kerner escreveu a primeira monografia sobre o assunto após observar sintomas de intoxicação devido ao consumo de salsicha contaminada, denominando-a “envenenamento por salsicha” (Muthane, Panikar, 2003). Neste estudo o médico também relatou alguns dos sintomas neurológicos decorrentes da ingestão da toxina e concluiu, que ela se desenvolvia em meios anaeróbicos, que interrompia algum tipo de neurotransmissor do sistema nervoso periférico e autônomo e que era letal em pequenas doses (Ting, Freiman, 2004).

O botulismo é uma doença fatal causada pelas toxinas produzidas pela bactéria *Clostridium botulinum*. A doença foi descrita pela primeira vez por Müller e Justinus Kerner, na Alemanha (Gelli et al., 2002). Dentre os sintomas neurológicos citados por Justinus Kerner estavam: vômitos, espasmos intestinais, ptose, disfagia, falha respiratória e midríase, que são sintomas relacionados ao sistema nervoso simpático. Foi então que Justinus propôs o uso terapêutico da toxina botulínica. Kerner tentou por diversas vezes produzir artificialmente esta substância, e depois de todas as tentativas falharem ele concluiu que ela tinha origem biológica, sendo esta uma descoberta decisiva para a época (Ting, Freiman, 2004).

A toxina botulínica foi usada, pela primeira vez em 1968, com fins terapêuticos no tratamento ao estrabismo, por Alan Scott e Edward Schantz. Alan Scott era um oftalmologista que queria encontrar uma substância que fosse capaz de bloquear o neurotransmissor envolvido na atividade muscular causadora do estrabismo. Para tal, ele considerou a opinião científica de Edward Schantz sobre a toxina botulínica, e concluiu que a substância seria uma alternativa ao método cirúrgico. Em 1978, Alan Scott obteve a autorização da FDA (*U.S. Food and Drug Administration*) para aplicar a toxina em voluntários portadores de estrabismo (Cereser et al., 2008).

A utilização da toxina botulínica com intuito cosmético teve início em 1990, após a oftalmologista Jean Carruthers e seu marido Alastair Carruthers observarem o desaparecimento de algumas rugas de expressão como efeito secundário da aplicação da toxina botulínica do tipo A, no tratamento do blefaroespasma (Ting, Freiman, 2004).

2.1.2 Mecanismo de ação

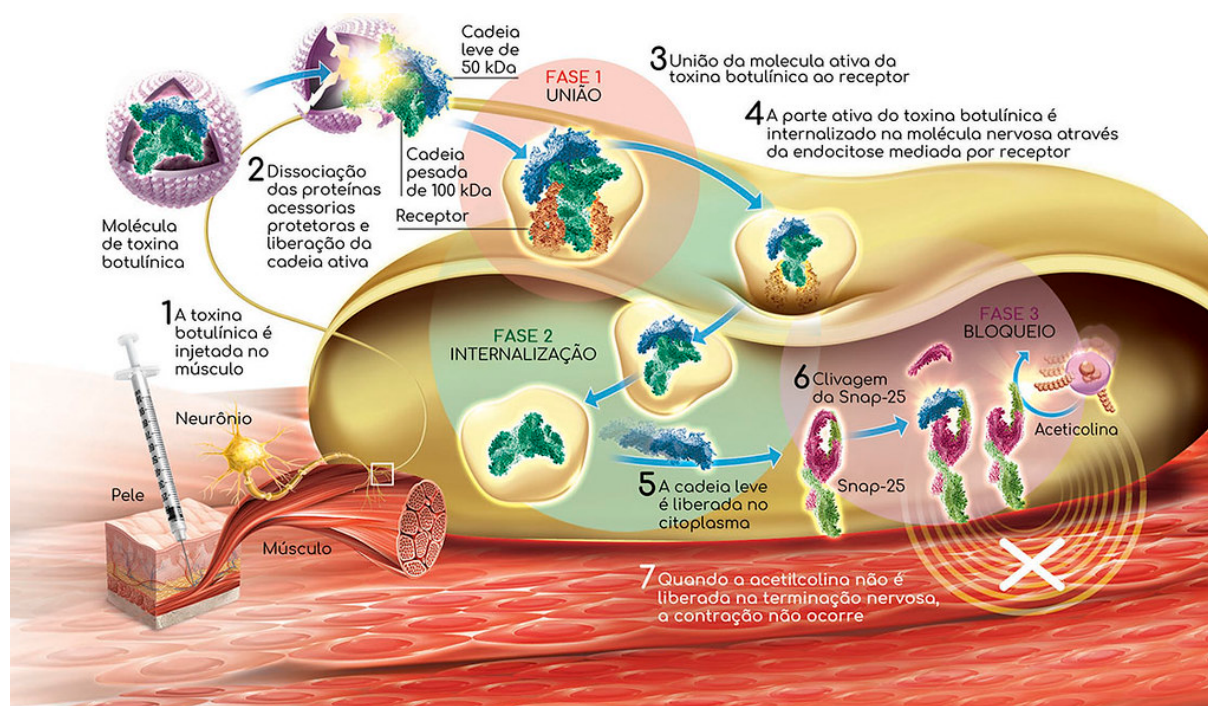
Em circunstâncias normais, a contração muscular ocorre quando as vesículas pré-sinápticas liberam a acetilcolina através de exocitose e ligam-se aos receptores de acetilcolina nas células musculares (Wenzel et al., 2004).

Esses receptores pré-sinápticos são responsáveis pela endocitose da neurotoxina na terminação nervosa motora. Após a internalização as proteases bacterianas endógenas clivam as toxinas botulínicas de cadeia simples, tornando a toxina ativa, com duas cadeias, uma pesada de 100 kDa e uma leve de 50 kDa, ligadas por uma ponte dissulfídrica (Sposito, 2004, 2009).

A toxina botulínica bloqueia a liberação de acetilcolina na junção neuromuscular esquelética e induz paralisia por inibir a transmissão de um impulso nervoso através da junção sináptica para a placa motora. A quimiodenervação resulta em fraqueza ou paralisia clássica. A ligação de uma molécula é permanente à placa motora e requer 24 a 48 horas para ação terapêutica. Este atraso é devido ao tempo necessário para esgotar o armazenamento de acetilcolina na placa motora

pré-sináptica. Embora a ligação seja permanente, o efeito paralítico persiste apenas por 2 a 6 meses. A razão para esta reversão é o restabelecimento da via do neurotransmissor devido à formação de novos brotos axonais. Este processo de neurogênese permite a recuperação completa da via de transmissão que resulta na função muscular (Kattimani et al., 2019).

Figura 1 - Mecanismo de ação da toxina botulínica



Fonte: Altamiro, 2018.

2.2 Eletromiografia de superfície (EMS)

O sinal de eletromiografia de superfície (EMGs) representa as características da função muscular e fornece informações sobre as atividades musculares. A análise deste sinal pode fornecer aos profissionais da área da saúde informações diagnósticas que pode servir como uma ferramenta útil ao decidir um plano de tratamento adequado para disfunção muscular. O uso de parâmetros cinéticos específicos é necessário para avaliar a função da marcha em pacientes ortopédicos,

mas quando combinados com diferentes tarefas motoras e avaliações de EMGs de superfície, essas combinações podem fornecer uma compreensão completa de marcha do paciente e equilíbrio muscular (Georgios, Papagiannis et al., 2019).

A eletromiografia assistida por computador (EMG) tornou-se uma ferramenta indispensável nas atividades diárias dos laboratórios de neurofisiologia facilitando a análise quantitativa e a tomada de decisão em neurofisiologia clínica, reabilitação, medicina esportiva e estudos da fisiologia humana. Essas ferramentas facilitam a: (i) Padronização oferecendo diagnósticos obtidos com critérios semelhantes em diferentes laboratórios; (ii) Sensibilidade oferecendo achados neurofisiológicos em determinado assunto sob investigação que podem ser comparados com um banco de dados de valores normais para determinar se a normalidade existe ou não; (iii) Especificidade através das descobertas podendo ser comparados com bancos de dados derivados de pacientes com doenças conhecidas, para avaliar se elas se enquadram em um diagnóstico; (iv) Equivalência, onde os resultados de exames seriados no mesmo paciente podem ser comparados para decidir se há evidência de progressão da doença ou de resposta ao tratamento (Kannas et al., 1999).

A EMGs combinada com dados cinéticos é uma ferramenta útil para a tomada de decisão do método adequado necessário para tratar esses pacientes. Ela tem sido usada há décadas para avaliar as respostas neuromusculares durante uma série de atividades e desenvolver protocolos de reabilitação (Triantafyllou et al., 2019). Este procedimento constitui o núcleo do exame neurofisiológico e contribui significativamente para os principais requisitos que são a identificação da fisiopatologia subjacente e a sua distribuição (Kannas et al., 1999).

2.3 Vitamina D

As duas formas primárias de vitamina D são D2, ergocalciferol e D3, colecalciferol. O ergocalciferol pode ser obtido de fontes vegetais, enquanto colecalciferol pode ser obtido a partir de alimentos de origem animal e exposição à luz solar. Na pele, sob radiação solar ultravioleta B, O 7-desidrocolesterol é fotoconvertido em pré-vitamina D3, que é convertido em vitamina D. Embora as duas

principais formas de vitamina D diferem na estrutura de suas cadeias laterais, elas não diferem em seu metabolismo geral ou funções no corpo. O metabolismo da vitamina D converte dois pró-hormônios, D2 e D3, para a forma biologicamente ativa, calcitriol (1,25- dihidroxivitamina D) (Chiang et al., 2016).

A concentração sérica do hormônio esteróide ativo precursor, 25(OH)D (calcidiol), é o melhor indicador do estado da vitamina D porque tem uma meia-vida longa de 15 dias. O *Institute of Medicine* (IOM) considerou concentrações de 25(OH)D < 20 ng/mL potencialmente prejudiciais para a população americana em geral (Rosen CJ et al., 2011). Pouco depois, a *Endocrine Society* estabeleceu o valor de 30 ng/mL (em vez de 20 ng/mL) como o limite inferior da normalidade para os níveis de 25(OH)D (Holick et al., 2011). Com base nas publicações dessas duas instituições, juntamente com revisão da literatura nacional e internacional, a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabolismo (Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia – SBEM) em 2014 a concentração de 25(OH)D de $\geq$ 30 ng/mL como desejável para as populações sem consequências prejudiciais de hipovitaminose D (Moreira et al., 2020).

O efeito clássico da vitamina D na saúde óssea e muscular é manter a homeostase do cálcio, enquanto os efeitos hormonais são alcançados através da ligação ao receptor de vitamina D. Além disso, também é conhecida por regular a ativação de vias de sinalização da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) no músculo, que afeta as funções celulares, incluindo proliferação, expressão gênica, diferenciação e mitose (Buitrago et al., 2012). Especificamente, a vitamina D tem demonstrado ativar a quinase regulada por sinal extracelular a caminho para estimular a proliferação e o crescimento das células musculares (Boland et al., 2001). No entanto, foi relatado que mais de um bilhão de pessoas em todo o mundo são deficientes em vitamina D3 com 36-69,9% dos jovens população adulta com deficiência.

Uma relação entre a deficiência de vitamina D e a redução da força muscular foi observada. Receptores de vitamina D foram encontrados nas fibras musculares esqueléticas e estudos mostraram que esses receptores estão envolvidos na síntese de proteínas dentro do músculo, promovendo seu crescimento (Chiang et al., 2016).

Tomlinson (2015) descobriu que a suplementação de vitamina D3 aumenta a força muscular dos membros superiores e inferiores em um adulto saudável,

população atlética e não-atlética entre 18 e 40 anos. No entanto existe uma necessidade para uma investigação mais aprofundada sobre a potência, resistência muscular e força máxima com suplementação de vitamina D.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo primário deste trabalho foi avaliar a durabilidade da toxina botulínica, através da mensuração da contração muscular, em diferentes tempos e analisar se o efeito da injeção da toxina botulínica diluída em solução fisiológica possui a mesma duração e efetividade nos dois grupos.

Além disso, avaliar se os pacientes com vitamina D acima de 30 ng/mL tiveram uma maior força muscular em região frontal em comparação aos pacientes com esse índice menor do que 30 ng/mL e consequentemente precisaram de uma dose maior de toxina botulínica para maior durabilidade e efetividade na ação do produto.

Como objetivos secundários, analisar clínica e estatisticamente se houve influência da dosagem da vitamina D na durabilidade e efetividade da toxina botulínica nos músculos da mímica facial através do eletromiógrafo. Além disso, avaliar através do Software ImageJ se a área das rugas da região que foi aplicada a toxina botulínica antes do procedimento é maior do que após o efeito da TB, verificando sua efetividade.

Através dos dados obtidos, o objetivo também foi avaliar através de questionários, se o tratamento proposto influenciou na autoestima dos pacientes e o índice de satisfação dos mesmos em relação ao tratamento proposto.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os pacientes foram submetidos a uma anamnese detalhada. A elaboração da anamnese foi a primeira conduta antes do procedimento, pois é através dela que conheceremos o paciente que será ou não submetido ao tratamento, pois será avaliado o estado de saúde geral, utilização de medicação contínua, hábitos e expectativa acerca do resultado.

O estudo passou de 3 fases: avaliação das respostas neuromusculares durante movimentos expressivos antes e após a aplicação da TB (Botulim 100U, Blau Farmacêutica S/A, Cotia/SP, Brasil) através da eletromiografia; análise da vitamina D através do hemograma com dosagem de vitamina D; aplicação de um questionário de autoestima e satisfação em relação ao tratamento com a toxina botulínica.

Com base na literatura, foram selecionados 20 pacientes, os quais avaliamos o índice de vitamina D (considerado nível baixo quando inferior a 30 ng/mL e o valor de referência quando acima de 30 ng/mL). Todos os pacientes elegíveis para o estudo assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

4.1 Critérios de inclusão

- a) Presença de rugas dinâmicas no terço superior da face;
- b) Idade entre 20 a 70 anos;
- c) Índice de massa corporal entre 18 a 35 (afim de evitar a possível influência no armazenamento da vitamina D no organismo);
- d) Não tenham se submetido a aplicação de toxina botulínica a menos de 6 meses.

4.2 Critérios de não inclusão

- a) Pacientes que recusaram a responder uma ou mais perguntas do questionário;

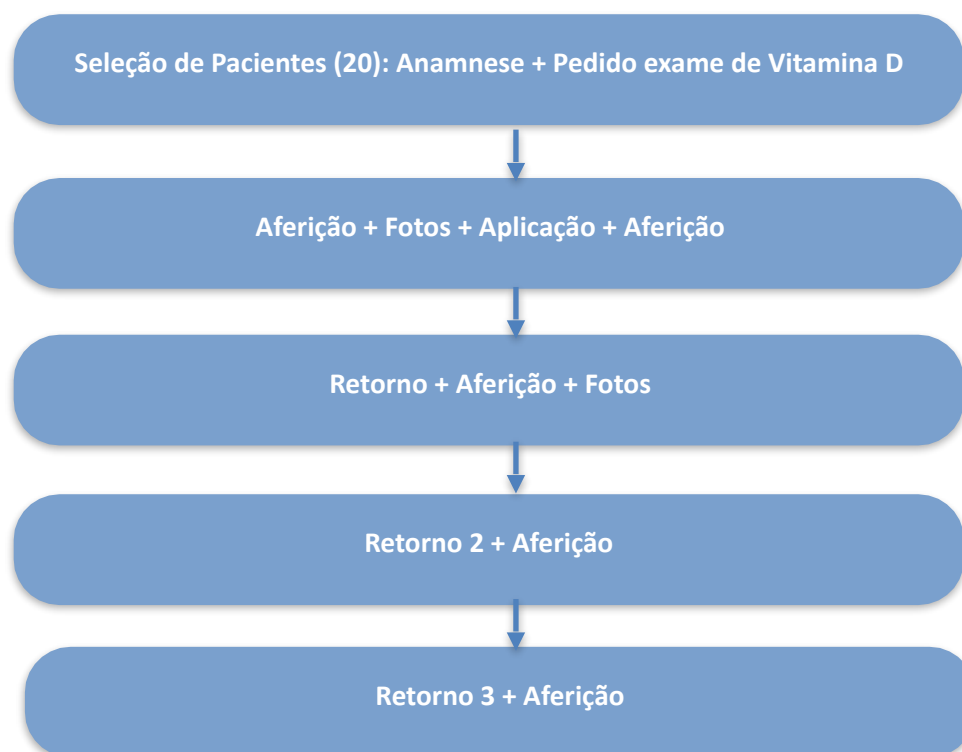
- b) Pacientes os quais se recusaram a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido;
- c) Não puderem comparecer no momento correto para as aferições com o eletromiógrafo;
- d) Ausência de rugas dinâmicas no terço superior da face;
- e) Tenham se submetido a aplicação de toxina botulínica a menos de 6 meses.

4.3 Critérios de exclusão

- a) Pacientes que se recusarem a comparecer as aferições com eletromiógrafo após terem recebido toxina botulínica;
- b) Pacientes que não respeitem o intervalo necessário entre aplicações de toxina botulínica. Que se submetam a uma nova aplicação de toxina botulínica no intervalo entre aferições, indo contra, inclusive, das recomendações do próprio fabricante da toxina.

4.4 Eletromiografia de superfície (EMG)

Figura 2 - Fluxograma das etapas de desenvolvimento do estudo



Fonte: Elaborada pela autora.

4.4.1 Especificações do Eletromiógrafo

Para o registro eletromiográfico, foi utilizado o eletromiógrafo EMG-800C-832 de oito canais (EMG System do Brasil Ltda, São José dos Campos, Brasil), previamente calibrado, com ganho de amplificação total de 2000 vezes, rejeição de modo comum $>100\text{dB}$, placa conversora analógico-digital (A/D) de 16 bits com resolução de faixa dinâmica, comunicação ao microcomputador utilizando adaptador de rede Ethernet 10Mbits com conector RJ45 (10BASE T) utilizando protocolo TCP/IP; filtro analógico do tipo Butterworth de dois pólos, de passa-baixa (FPB) de 500Hz e passa-alta (FPA) de 20 Hz; software de aquisição

e análise de sinais eletromiográficos plataforma Windows Vista /XP para apresentação simultânea dos sinais de vários canais e tratamento do sinal (valor de RMS, média, mínimo, máximo e desvio padrão, FFT (online) com taxa de aquisição (amostragem) de até 2000 amostras / segundo por canal programável por software.

Foram utilizados quatro canais de entrada com eletrodos ativos com ganho de amplificação de 20 vezes para a coleta do sinal eletromiográfico.

4.4.2 Posicionamento dos eletrodos de superfície

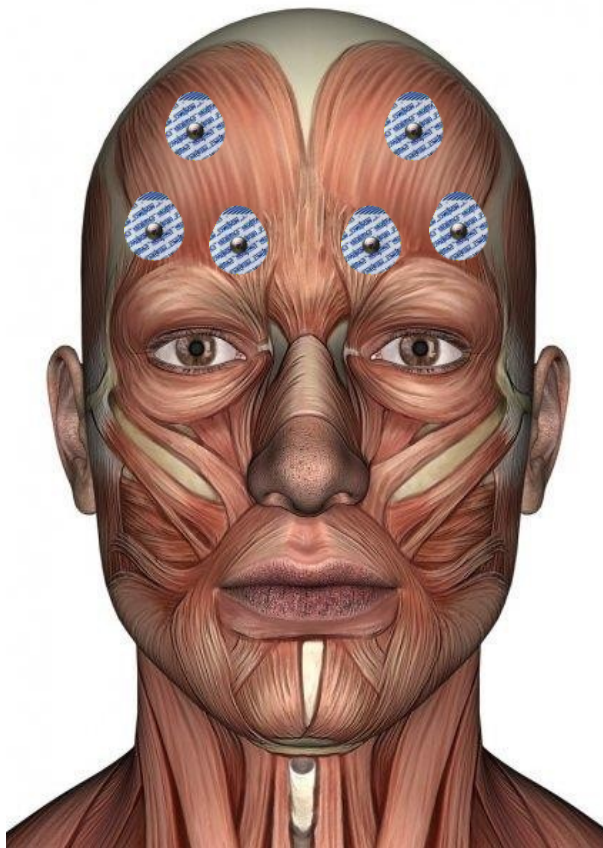
Foram utilizados eletrodos de superfície bipolares de Ag/AgCl, formato circular, descartáveis (Chicopee MA01, Meditrace® Kendall-LTP, Dublin, Irlanda), para captação simultânea da atividade elétrica de várias unidades motoras, fornecendo uma abordagem geral da dinâmica muscular. Estes eletrodos foram acoplados a um pré-amplificador com ganho de 20 vezes caracterizando um circuito diferencial.

Um eletrodo de referência (terra) foi posicionado no punho direito.

Os voluntários permaneceram sentados para a coleta dos dados, que iniciou pela limpeza da pele com lenço demaquilante, em caso de maquiagem, seguido por algodão embebido em álcool 70% para reduzir a impedância da mesma e para a adequada colocação dos eletrodos de superfície orientados pela direção das fibras musculares.

A posição dos eletrodos foi determinada pela palpação muscular de acordo com a figura a seguir:

Figura 3 - Localização dos eletrodos



Fonte: Elaborada pela autora.

Durante a tomada (T) do registro pelo eletromiógrafo o paciente recebeu as instruções de contrair a musculatura que estava em aferição naquele momento. Cada músculo teve sua força aferida 3 vezes em cada lado, em cada tomada. Sendo assim resultando em 6 valores de RMS para cada grupo de músculo, sendo eles frontais e corrugadores, para assim gerar uma maior confiabilidade dos dados.

Foram realizadas 5 aferições em cada paciente utilizando o eletromiógrafo:

T1: aferição pré aplicação da toxina botulínica (TB);

T2: aferição logo após a aplicação;

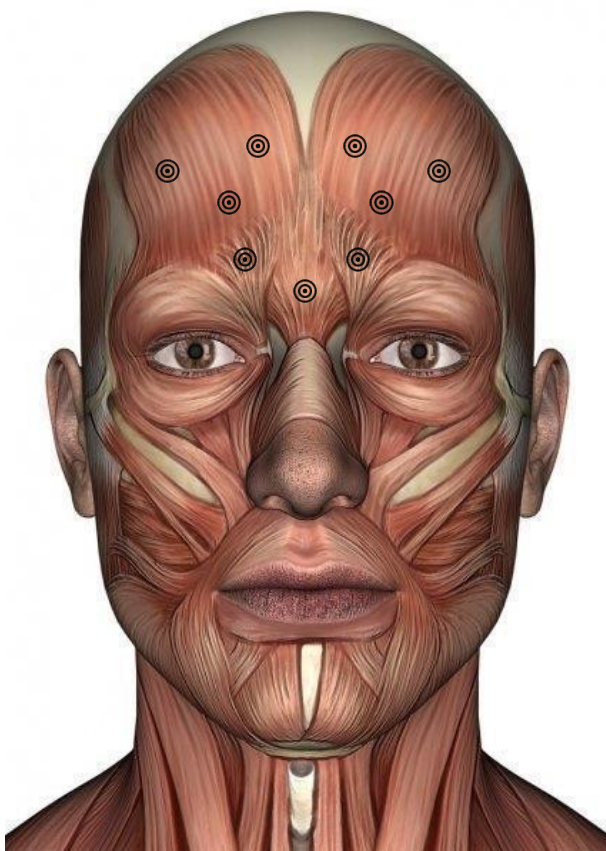
T3: aferição 14 dias após a aplicação da toxina botulínica;

T4: aferição 5 a 6 semanas após a aplicação da toxina botulínica;

T5: aferição 12 a 15 semanas após aplicação da toxina botulínica.

A diluição que foi realizada seguiu o padrão: 2 mL de soro para cada 100 unidades de toxina botulínica (Botulim 100U, Blau Farmacêutica S/A, Cotia/SP, Brasil).

Figura 4 - Localização de referência dos pontos de aplicação



Fonte: Elaborada pela autora.

A aplicação dessa solução em cada ponto foi realizada por via intramuscular com auxílio de seringa de 1 mL e agulha 30G.

Os riscos para esse protocolo de pesquisa são considerados médios devido à aplicação da toxina botulínica, que pode gerar alguns efeitos adversos ou secundários após a aplicação, como pequenas marcas transitórias no local da aplicação, hematomas, inflamação ou reação não desejadas descritas na bula,

esses efeitos são comumente transitórios e totalmente reversíveis.

4.5 Análise da vitamina D

No momento da primeira consulta foi realizado um pedido de exame de Vitamina D, o qual deveria ser realizado na parte da manhã com pelo menos 4 horas de jejum. Uma segunda consulta após resultado do exame foi realizada para a seleção dos 20 pacientes e após essa seleção foi as etapas expostas no fluxograma da figura 2.

Nas consultas seguintes foram realizadas as aferições com o eletromiógrafo da mesma forma descrita anteriormente.

Dessa forma foi possível avaliar quantitativamente através das aferições pelo EMG e qualitativamente através do questionário se houve interferência desta vitamina na ação de durabilidade e efetividade em relação às aplicações de toxina botulínica.

4.6 Análise da qualidade de pele

Para a análise da qualidade da pele antes e após a aplicação da toxina botulínica foram realizadas fotografias com um aparelho Iphone 11 pro onde foi aplicado em todas as tomadas zoom de 2.3x com o paciente sentado em uma cadeira de posição fixa e com marcações no chão onde o profissional permanecia localizado no momento da tomada fotográfica.

Ao lado do paciente, compondo a imagem, sempre esteve presente um dispositivo padrão para servir como referência métrica na mensuração das estruturas no software Image J (*National Institutes of Health*).

Através desse software foi mensurada a área em cm quadrados das rugas da região em que foi aplicada a TB. Dessa forma foi possível observar a melhora na qualidade da pele e quantificar a área após o tratamento.

4.7 Questionário de satisfação e autoestima

Foi aplicado o questionário de autoestima (Questionário 1) na primeira consulta do paciente, antes do tratamento com TB, e na consulta final do acompanhamento dos pacientes foi realizado o questionário de satisfação e autoestima (Questionário 2).

Figura 5 - Questionário de Autoestima

Questionário de Satisfação e Autoestima
Está satisfeita(o) com sua aparência?
Nota presença de ríides faciais?
Se sente com a idade que aparenta?
Sente seu rosto cansado?
Se sente confiante?
Se sente bonito(a)?
O resultado foi o que você esperava?
Você faria o tratamento novamente?
Sentiu dor durante a aplicação?
Sentiu dor após a aplicação?
Você recomendaria o tratamento à outras pessoas?

Fonte: Elaborada pela autora.

No questionário 1 (Figura 5), o quadro 1, abaixo, foi fornecido como base para as respostas que foram dadas numericamente através da escala de 1 a 5.

Quadro 1 - Escala para resposta do questionário de satisfação

*Escala de satisfação = 1 a 5
1= muito insatisfeito
2= insatisfeito
3= neutro
4= satisfeito
5= muito satisfeito

Fonte: Elaborada pela autora.

No questionário 2 (Figura 6), o quadro 1, também utilizado no questionário 1 foi novamente fornecido como base para as respostas de autoestima, enquanto as perguntas de satisfação em relação ao tratamento foram respondidas com “SIM” ou “NÃO”.

Figura 6 - Questionário de Satisfação e Autoestima

Questionário de Autoestima
Está satisfeita(o) com sua aparência?
Nota presença de rítmicas faciais?
Se sente com a idade que aparenta?
Sente seu rosto cansado?
Se sente confiante?
Se sente bonito(a)?

Fonte: Elaborada pela autora.

4.8 Análises fotográficas Image J

Para realização das análises no Software, os arquivos JPEG das imagens são abertos no mesmo, primeiramente é estabelecida uma escala, ou seja, através da régua referência utilizada em todas as fotos determina-se a quantidade de pixels existente em 1cm, a partir disso diversas medidas podem ser realizadas dentro do software, sejam elas lineares ou de área. E assim torna-se possível analisar a melhora ou não das rugas na face dos pacientes.

Figura 7 - Conjunto de imagens demonstrativas das análises no Image J



Fonte: Elaborada pela autora.

4.9 Análise Estatística

Os resultados de contração em RMS foram analisados segundo a média das seis aferições por músculo: três aferições lado direito e três aferições do lado esquerdo. As médias de cada músculo foram separadas segundo: o grupo muscular analisado, vitamina D ($>$ ou $<$) e momento da aferição (inicial, imediato, 02 semanas, 05 semanas e 12 semanas).

As médias passaram pela análise estatística em software apropriado para análise (*jamovi*, Version 2.3, Computer Software), onde foi analisado o pressuposto de normalidade pelo teste Shapiro-Wilk ($\alpha=0,05$) e baseado em seus resultados, optou-se pelo teste não paramétricos para medições repetidas, o Friedman test ($\alpha=0,05$). Já para a análises entre dois grupos, devido aos resultados do teste Shapiro-Wilk e para padronização das análises, optou-se pelo teste U de mann-whitney para amostras independentes ($\alpha=0,05$).

Para melhor elucidar os resultados obtidos, foi proposta a avaliação da conservação de força muscular ao longo do tempo, 02 semanas, 05 semanas e 12 semanas entre os indivíduos com vitamina D ($>$ ou $<$). Para isso utilizou-se a seguinte fórmula: $(100 \cdot MS) / MI$, onde MS é a média da semana (segunda, quinta ou décima segunda) e MI é a média inicial.

Os valores de conservação de força muscular ao longo do tempo, passaram pelo teste Shapiro-Wilk ($\alpha=0,05$) e para o grupo muscular frontal, optou-se pelo teste t de student ($\alpha=0,05$) e para o grupo muscular prócero teste U de mann-whitney para amostras independentes ($\alpha=0,05$).

5 RESULTADOS

5.1 Eletromiografia de Superfície - Efetividade Toxina Botulínica

Os valores eletromiográficos médios de RMS (*Root Mean Square* - Raiz média Quadrática), valor eficaz, de cada músculo avaliado em todos os participantes do estudo e durante todos os períodos (antes da aplicação, imediatamente após a aplicação, 2 semanas, 5 semanas e 12 semanas) em contração podem ser visualizados na Tabela 1 e nas Figuras 8 e 9, página 33, respectivamente. Juntamente a eles podem ser observados a mediana, o desvio-padrão, valores mínimos e máximos de RMS e o resultado do teste de normalidade *Shapiro-Wilk*.

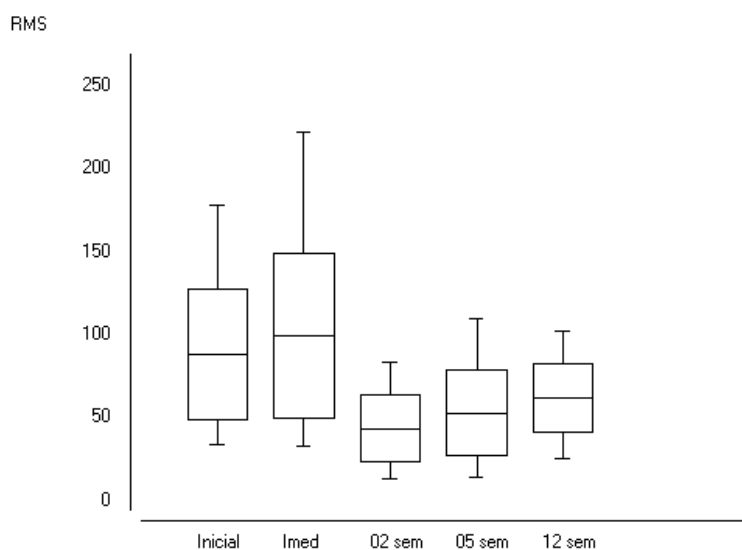
Tabela 1 - Estatística Descritiva - Força Muscular (RMS)

	Média	Mediana	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Shapiro-Wilk	
						W	p
Frontal Inicial	88.2	82.3	39.1	33.5	178.3	0.877	0.011
Frontal Imediato	101.3	94.4	50.4	32.9	222.6	0.949	0.301
Frontal 02 semanas	43.1	46.6	20.5	13.6	83.0	0.940	0.195
Frontal 05 semanas	54.7	45.7	25.2	21.4	109.4	0.874	0.009
Frontal 12 semanas	61.6	56.8	20.5	25.6	102.4	0.976	0.851
Corrugadores Inicial	66.9	59.0	29.3	30.2	147.5	0.871	0.008
Corrugadores Imediato	72.4	63.3	37.8	31.3	163.7	0.817	< .001
Corrugadores 02 semanas	44.5	35.2	28.1	12.2	117.4	0.853	0.004
Corrugadores 05 semanas	46.1	39.1	28.2	13.0	110.8	0.921	0.081
Corrugadores 12 semanas	41.0	32.1	22.9	14.8	93.5	0.855	0.004

Legenda: Toma-se como nível de significância $\alpha = 0.05$

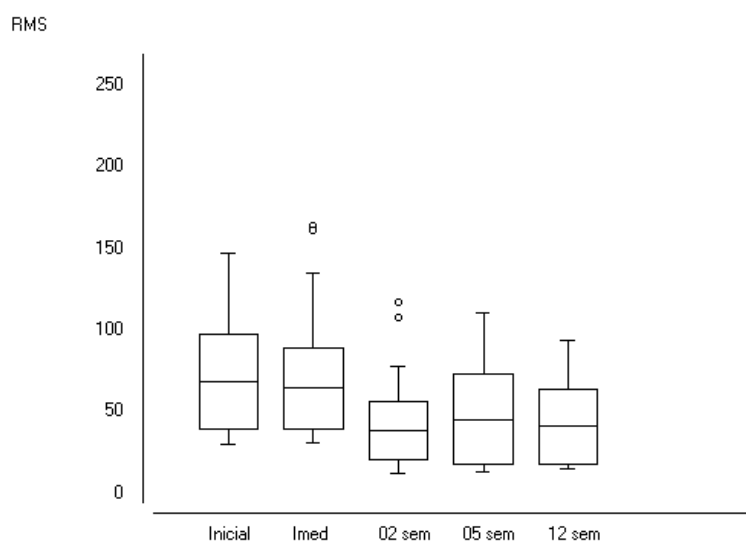
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 8 - Gráfico da Estatística Descritiva no Músculo Frontal



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 9 - Gráfico da Estatística Descritiva no Músculo Corrugador



Fonte: Elaborada pela autora.

Após realização do teste de normalidade e constatado que nem todos os grupos seguiam normalidade, o *Friedman Test* foi selecionado neste momento para

análise múltipla entre os grupos dos músculos frontais e dos corrugadores em RMS, cujo resultado pode ser visualizado na Tabela 2 para o músculo frontal e na Tabela 5 para os corrugadores. O resultado de $p < .001$, implica que houve diferença estatística entre os grupos, no entanto não especifica onde este fenômeno ocorreu.

Tabela 2 - *Friedman Test* - Frontal

χ^2	gl	p
39.1	4	<u>< .001</u>

Fonte: Elaborada pela autora.

Para identificar entre quais grupos houveram essa diferença estatística, realizou-se o teste de comparações múltiplas de *Durbin-Conover*, separadamente para cada grupo de músculos, e os resultados do frontal estão demonstrados nas Tabelas 3 e 4, e os dos corrugadores estão apresentados na Tabelas 6 e 7.

Tabela 3 - Teste de comparações múltiplas - *Durbin-Conover* - Frontal

Friedman <u><.001</u>			Estatística	p
Frontal Inicial	-	Frontal Imediato	1.624	0.108
Frontal Inicial	-	Frontal 02 semanas	5.498	< .001
Frontal Inicial	-	Frontal 05 semanas	3.874	< .001
Frontal Inicial	-	Frontal 12 semanas	2.874	0.005
Frontal Imediato	-	Frontal 02 semanas	7.122	< .001
Frontal Imediato	-	Frontal 05 semanas	5.498	< .001
Frontal Imediato	-	Frontal 12 semanas	4.498	< .001
Frontal 02 semanas	-	Frontal 05 semanas	1.624	0.108
Frontal 02 semanas	-	Frontal 12 semanas	2.624	0.010
Frontal 05 semanas	-	Frontal 12 semanas	1.000	0.320

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 4 - Agrupamento comparações múltiplas - *Durbin-Conover* - Frontal

Comparações Múltiplas	
Frontal Inicial	a
Frontal Imediato	a
Frontal 02 semanas	b c
Frontal 05 semanas	b c d
Frontal 12 semanas	c d

Fonte: Elaborada pela autora.

Através dos dados obtidos para o músculo frontal, apresentados na Tabela 3, observa-se que houve diferença estatística significativa entre o momento inicial em relação a 2 semanas e 5 semanas. No entanto observou-se que não houve

diferença estatística significativa entre o momento inicial x 12 semanas, mesmo que em médias absolutas, o momento de 12 semanas apresenta forças musculares menores do que no momento inicial.

Ainda sobre os resultados obtidos para o músculo frontal (Tabela 3), constata-se que os momentos 2 semanas x 5 semanas e 2 semanas x 12 semanas não apresentam diferença estatística significativa entre eles, mas observa-se que o p valor entre os momentos 2 semanas x 12 semanas está muito mais próximo de $p < .001$ do que 2 semanas x 5 semanas.

Tabela 5 - *Friedman Test* - Corrugadores

χ^2	gl	p
30.1	4	< .001

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 6 - Teste de comparações múltiplas - *Durbin-Conover* - Corrugadores

			Estatística	p
Corrugadores Inicial	-	Corrugadores Imediato	0.230	0.819
Corrugadores Inicial	-	Corrugadores 02 semanas	3.560	< .001
Corrugadores Inicial	-	Corrugadores 05 semanas	4.135	< .001
Corrugadores Inicial	-	Corrugadores 12 semanas	4.594	< .001
Corrugadores Imediato	-	Corrugadores 02 semanas	3.790	< .001
Corrugadores Imediato	-	Corrugadores 05 semanas	4.364	< .001
Corrugadores Imediato	-	Corrugadores 12 semanas	4.824	< .001
Corrugadores 02 semanas	-	Corrugadores 05 semanas	0.574	0.567
Corrugadores 02 semanas	-	Corrugadores 12 semanas	1.034	0.304
Corrugadores 05 semanas	-	Corrugadores 12 semanas	0.459	0.647

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 7 - Agrupamento comparações múltiplas - *Durbin-Conover* - Corrugadores

Comparações Múltiplas	
Prócero Inicial	a
Prócero Imediato	a
Prócero 02 semanas	b c
Prócero 05 semanas	b c d
Prócero 12 semanas	b d

Fonte: Elaborada pela autora.

Através dos dados obtidos para os músculos corrugadores, apresentados na Tabela 6, observa-se que houve diferença estatística significativa entre o momento inicial em relação a 2 semanas, 5 semanas e 12 semanas. Além disso, observou-se que não houve diferença estatística significativa entre os momentos 2 semanas x 5 semanas e 2 semanas x 12 semanas.

5.2 Análise da força muscular - Influência dosagem Vitamina D

Os valores eletromiográficos de RMS de cada músculo avaliado, neste momento separados por grupo de pacientes com vitamina D > 30 ng/mL e grupo de pacientes com vitamina D < 30 ng/mL, foram analisados de acordo com todos os momentos de aferição em contração muscular. Estes dados descritivos, de ambos os grupos musculares podem ser visualizados na Tabela 8 e nas Figuras 10 e 11 para o músculo frontal, página 38 e Figuras 12 e 13 para os corrugadores, página 39.

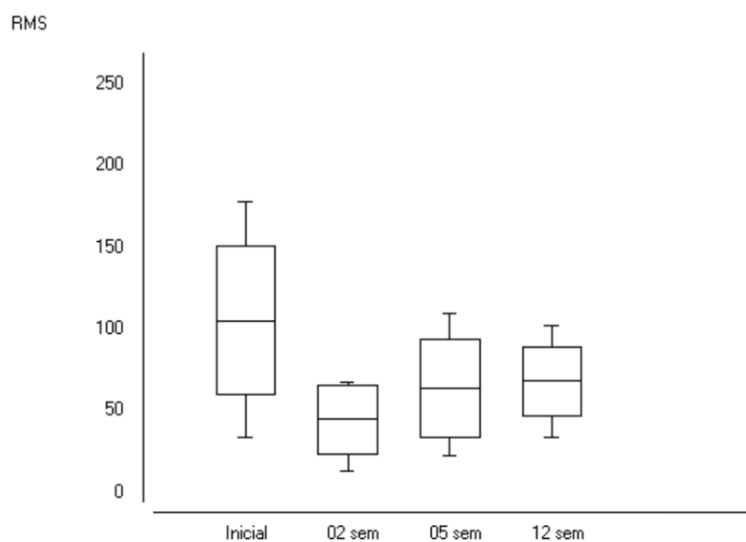
Tabela 8 - Estatística Descritiva - Força Muscular versus dosagem de Vitamina D

Estatística Descritiva

							Shapiro-Wilk	
	Vitamina - D	Média	Mediana	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	W	p
Frontal Inicial	<	67.6	64.2	12.5	55.4	90.0	0.848	0.054
	>	105.4	100.5	45.7	33.5	178.3	0.921	0.294
Frontal Imediato	<	81.9	73.2	33.2	41.4	146.5	0.946	0.621
	>	117.5	111.4	57.6	32.9	222.6	0.974	0.951
Frontal 02 semanas	<	41.0	35.6	20.7	20.6	83.0	0.871	0.103
	>	44.8	48.8	21.0	13.6	67.0	0.856	0.044
Frontal 05 semanas	<	44.1	44.7	12.6	21.4	68.4	0.937	0.515
	>	63.5	54.3	30.0	22.2	109.4	0.911	0.217
Frontal 12 semanas	<	53.8	52.6	17.5	25.6	84.2	0.945	0.615
	>	68.1	67.4	21.2	33.4	102.4	0.980	0.982
Corrugadores Inicial	<	65.4	61.9	21.7	41.2	116.0	0.872	0.106
	>	68.2	57.0	35.3	30.2	147.5	0.872	0.068
Corrugadores Imediato	<	71.8	63.3	35.3	37.0	161.7	0.763	0.005
	>	72.9	58.7	41.4	31.3	163.7	0.841	0.028
Corrugadores 02 semanas	<	37.6	33.7	20.2	12.2	73.6	0.916	0.327
	>	50.3	40.0	33.0	18.3	117.4	0.814	0.014
Corrugadores 05 semanas	<	40.3	35.1	24.1	13.0	89.2	0.929	0.437
	>	50.9	45.1	31.5	13.0	110.8	0.935	0.433
Corrugadores 12 semanas	<	40.5	32.1	21.1	22.7	81.6	0.732	0.002
	>	41.5	33.8	25.3	14.8	93.5	0.885	0.103

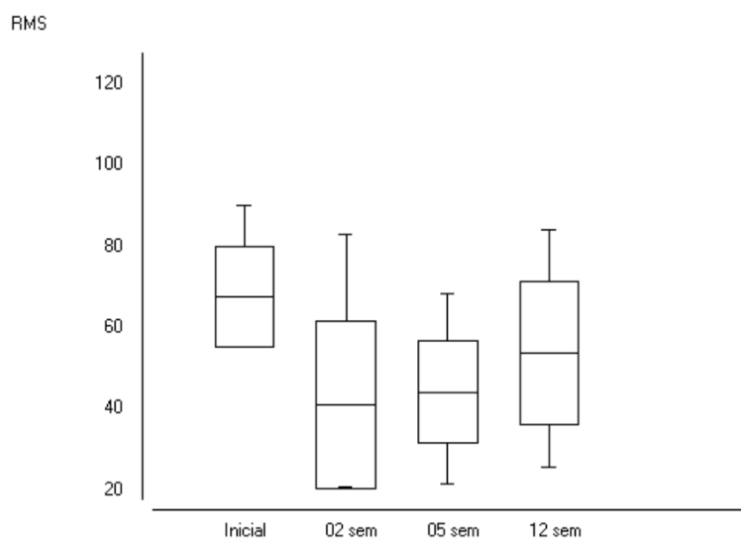
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 10 - Gráfico da Estatística Descritiva - Músculo Frontal - Vit. D > 30 ng/mL



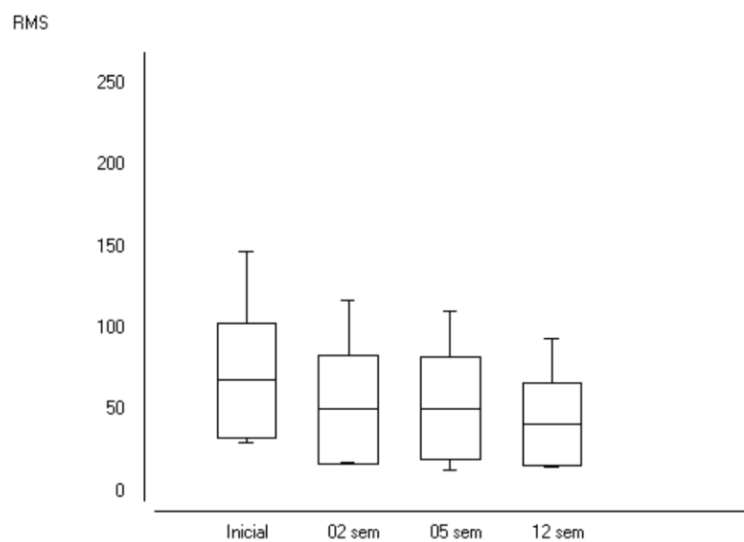
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 11 - Gráfico da Estatística Descritiva - Músculo Frontal - Vit. D < 30 ng/mL



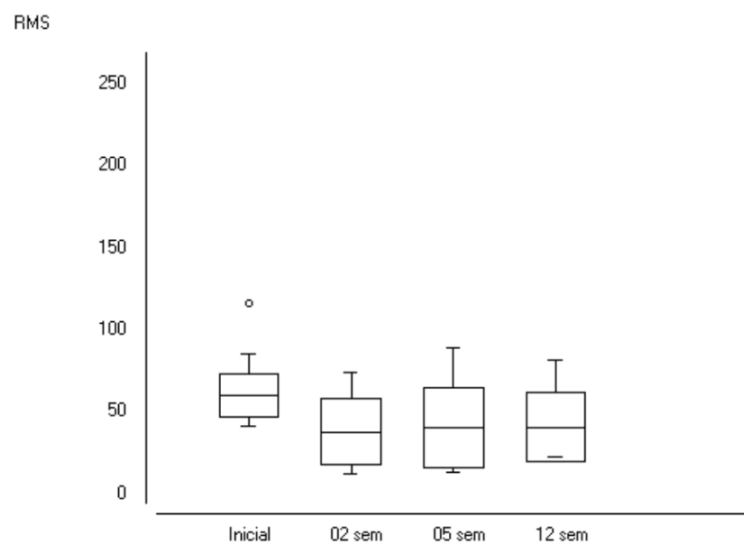
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 12- Gráfico da Estatística Descritiva - Músculo Corrugador - Vit. D > 30 ng/mL



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 13 - Gráfico da Estatística Descritiva - Músculo Corrugador -Vit. D < 30 ng/mL



Fonte: Elaborada pela autora.

Os grupos passaram pelo teste de *Shapiro Wilk* e não apresentaram distribuição normal. Dessa forma foi selecionado o teste não paramétrico de *Mann Whitney* para amostras independentes.

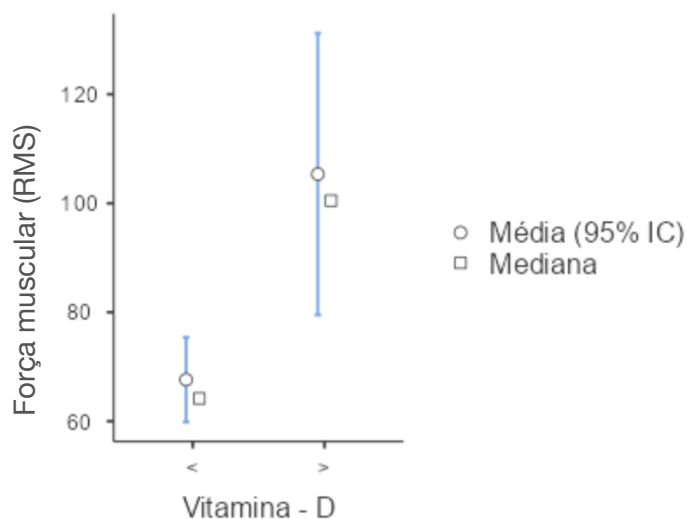
Tabela 9 - Teste U de Mann-Whitney para amostras independentes em RMS - Frontal Vit D < e > 30 ng/mL

		Estatística	p
Frontal Inicial	U de Mann-Whitney	23.0	0.014
Frontal 02 semanas	U de Mann-Whitney	51.0	0.582
Frontal 05 semanas	U de Mann-Whitney	39.0	0.176
Frontal 12 semanas	U de Mann-Whitney	35.0	0.107

Fonte: Elaborada pela autora.

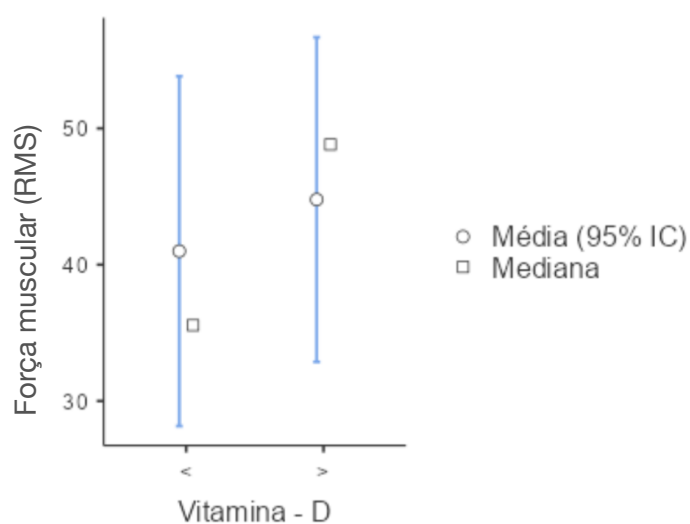
Na Tabela 9, observa-se que houve diferença estatística significativa ($p < .05$) apenas para o grupos do músculo frontal inicial de vitamina D > 30 ng/mL em comparação vitamina D < 30 ng/mL e na Figura 14, observa-se a média, mediana, mínimo e máximo destes grupos.

Figura 14 - Gráfico de média, mediana, mínimo e máximo da força muscular - Frontal Inicial x Vit. D



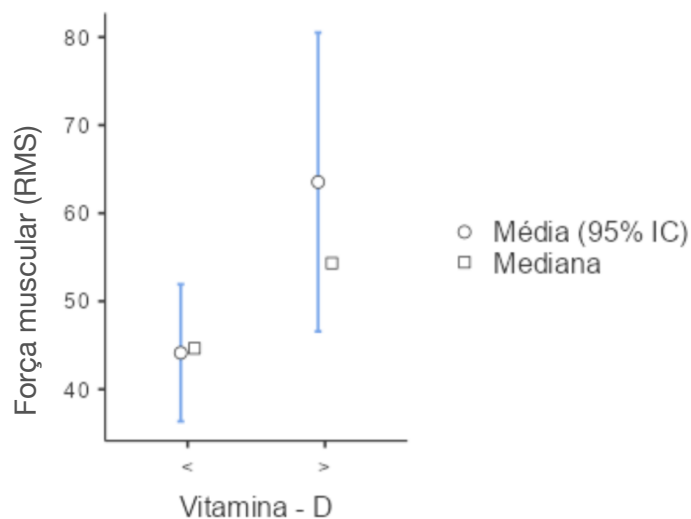
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 15 - Gráfico de média, mediana, mínimo e máximo da força muscular - Frontal 2 sem. x Vit. D



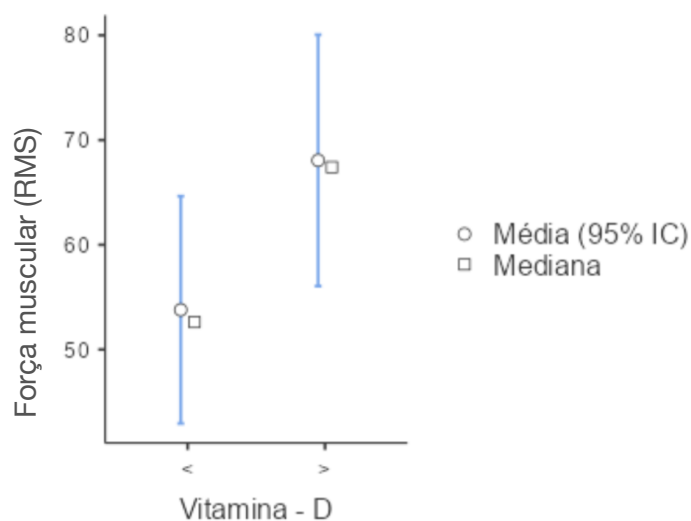
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 16 - Gráfico de média, mediana, mínimo e máximo da força muscular - Frontal 5 sem. x Vit. D



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 17 - Gráfico de média, mediana, mínimo e máximo da força muscular - Frontal 12 sem. x Vit. D



Fonte: Elaborada pela autora.

A média bruta obtida no grupo dos pacientes com vitamina D > 30 ng/mL mostra-se maior em todos os tempos de acompanhamento dos pacientes, como observados nas Figuras 14, 15, 16 e 17. Nos tempos de aferição de 2 semanas, 5 semanas e 12 semanas não houve diferença estatística significativa entre os grupos.

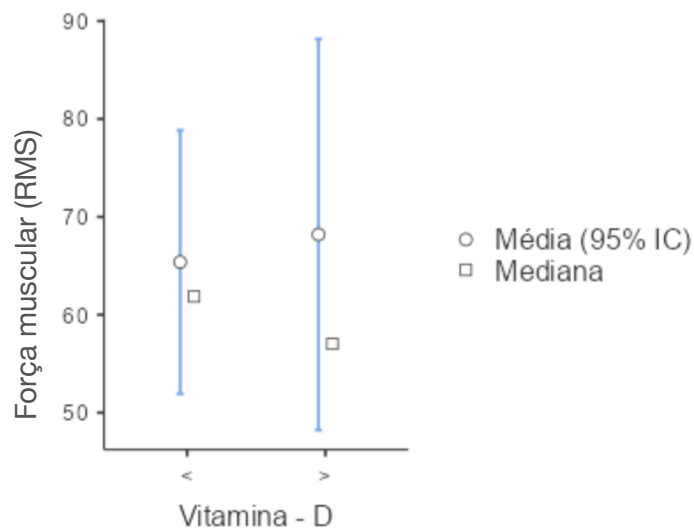
Tabela 10 - Teste U de Mann-Whitney para amostras independentes em RMS - Corrugador Vit D < e > 30 ng/mL

		Estatística	p
Corrugadores Inicial	U de Mann-Whitney	56.0	0.821
Corrugadores 02 semanas	U de Mann-Whitney	45.0	0.346
Corrugadores 05 semanas	U de Mann-Whitney	49.0	0.497
Corrugadores 12 semanas	U de Mann-Whitney	56.0	0.821

Fonte: Elaborada pela autora.

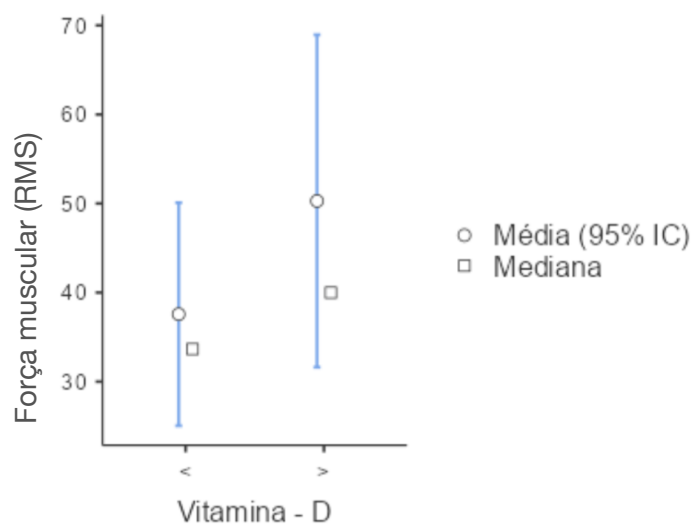
Na Tabela 10, observa-se que não houve diferença estatística significativa ($p < .05$) para nenhum dos grupos do músculo corrugador e nas Figuras 18, 19, 20 e 21 observa-se a média, mediana, mínimo e máximo de todos grupos e momentos.

Figura 18 - Gráfico de média, mediana, mínimo e máximo da força muscular - Corrugador Inicial x Vitamina D



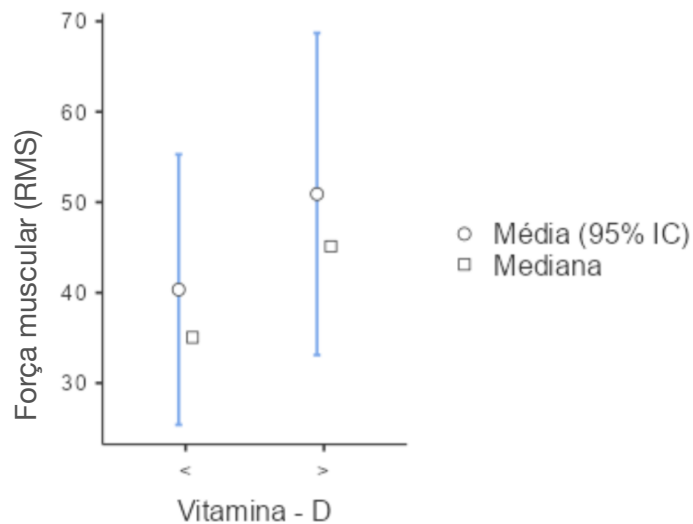
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 19 - Gráfico de média, mediana, mínimo e máximo da força muscular - Corrugador 2 semanas x Vitamina D



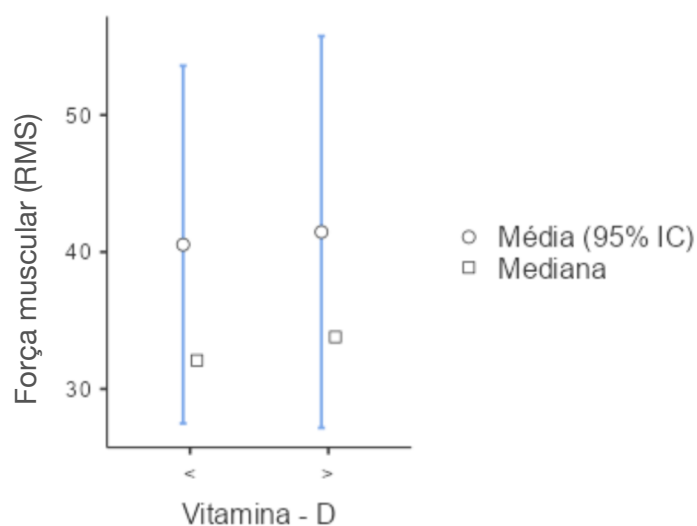
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 20 - Gráfico de média, mediana, mínimo e máximo da força muscular - Corrugador 5 semanas x Vitamina D



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 21 - Gráfico de média, mediana, mínimo e máximo da força muscular - Corrugador 12 semanas x Vitamina D



Fonte: Elaborada pela autora.

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, como observados nas Figuras 18, 19, 20 e 21.

Tabela 11 - Estatística Descritiva - Percentuais de forças restantes após aplicação de TB - Frontal

	Grupo	Média	Mediana	Desvio-padrão
Frontal 02 semanas	<	64.2	56.6	37.0
	>	45.8	49.7	20.7
Frontal 05 semanas	<	68.6	70.2	26.7
	>	67.5	61.3	33.0
Frontal 12 semanas	<	87.5	83.2	22.3
	>	72.6	62.3	33.7

Fonte: Elaborada pela autora.

Outra maneira possível para avaliar a força muscular entre os grupos, é através do percentual das forças restantes após aplicação de TB (Tabela 11 e 15), não mais o RMS das forças musculares, entre os grupos de vitamina D > 30 ng/ml e vitamina D < 30 ng/mL. Desta forma, foi realizado o teste *Shapiro Wilk* (Tabela 12), para verificar se havia normalidade, no qual constatou-se que os dados do músculo frontal seguiram a distribuição normal. Possibilitando assim, a realização do teste T para amostras independentes, no qual verificou-se que não existe diferença estatística significativa entre nenhum dos grupos, como pode ser observado na Tabela 13.

Tabela 12 - Teste de normalidade - *Shapiro Wilk* - Frontal

	W	p
Frontal 02 semanas	0.944	0.235
Frontal 05 semanas	0.949	0.300
Frontal 12 semanas	0.936	0.179

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 13 - Teste T para amostras independentes - Frontal

						Intervalo de Confiança a 95%	
		Estatística	p		Dimensão do Efeito	Lim. Inferior	Superior
Frontal 02 semanas	t de Student	1.4716	0.157	d de Cohen	0.6301	-0.272	1.502
Frontal 05 semanas	t de Student	0.0805	0.937	d de Cohen	0.0345	-0.806	0.873
Frontal 12 semanas	t de Student	1.1760	0.254	d de Cohen	0.5138	-0.387	1.388

Fonte: Elaborada pela autora.

Nas figuras 22, 23 e 24, é possível observar que mesmo não havendo diferença estatística significativa, em médias absolutas dos percentuais, verifica-se que o grupo vitamina D > 30 ng/mL apresenta maior diminuição de força comparado a suas próprias forças iniciais, não significando que possuem força menor do que o grupo de vitamina D < 30 ng/mL em valores absolutos de RMS.

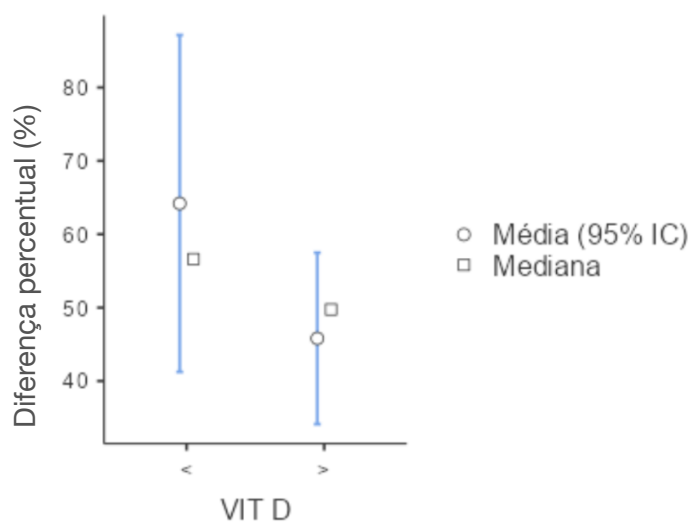
Na tabela 14, observa-se ainda que os dados apresentam uma homogeneidade de variâncias, além da ausência de diferença estatística.

Tabela 14 - Teste de homogeneidade de variâncias - Levene - Frontal

	F	gl	gl2	p
Frontal 02 semanas	2.72	1	20	0.115
Frontal 05 semanas	1.75	1	20	0.201
Frontal 12 semanas	1.10	1	19	0.307

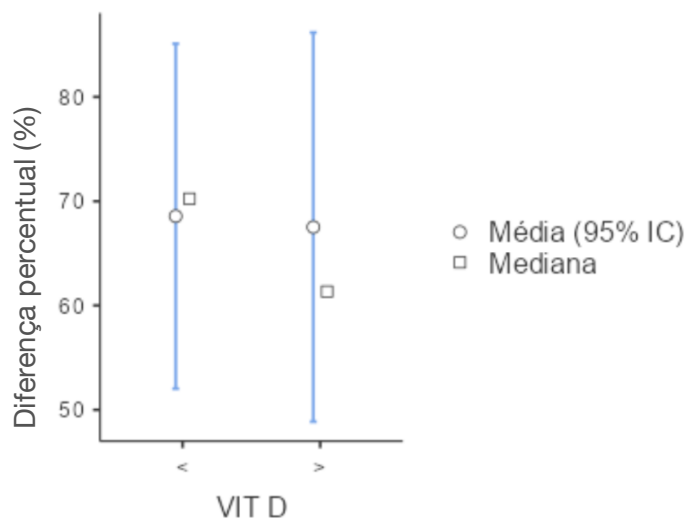
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 22 - Gráfico de média, mediana, mínimo e máximo das diferenças percentuais - Frontal 2 semanas x Vitamina D



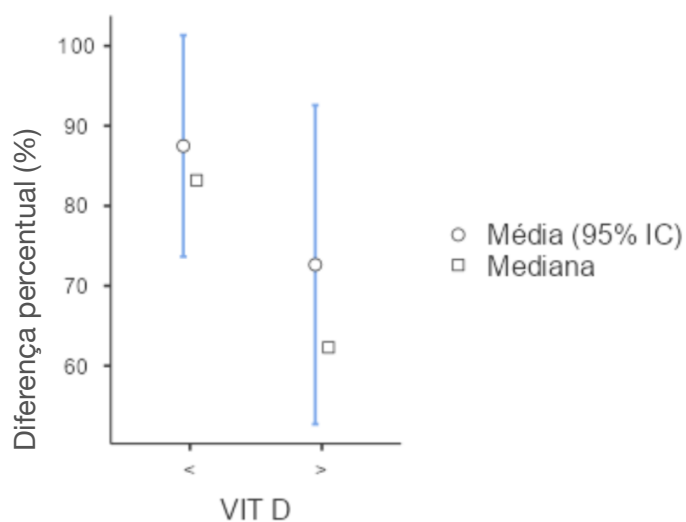
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 23 - Gráfico de média, mediana, mínimo e máximo das diferenças percentuais - Frontal 5 semanas x Vitamina D



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 24 - Gráfico de média, mediana, mínimo e máximo das diferenças percentuais - Frontal 12 semanas x Vitamina D



Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 15 - Estatística Descritiva - Percentuais de forças restantes após aplicação de TB - Corrugador

	Grupo	Média	Mediana	Desvio-padrão
Corrugadores 02 semanas	<	57.0	55.1	24.6
	>	75.5	70.4	31.8
Corrugadores 05 semanas	<	59.4	55.3	35.4
	>	93.2	61.3	97.3
Corrugadores 12 semanas	<	60.7	62.2	24.6
	>	76.4	43.3	82.7

Fonte: Elaborada pela autora.

Foi realizado o teste *Shapiro Wilk* (Tabela 16), para verificar se havia normalidade, no qual constatou-se que os dados do músculo corrugador não seguiram a distribuição normal. Consequentemente, a realização do teste *Mann-Whitney* se mostrou adequada, neste verificou-se que não existe diferença estatística significativa entre nenhum dos grupos, como pode ser observado na Tabela 17.

Tabela 16 - Teste de normalidade - *Shapiro Wilk* - Corrugador

	W	p
Corrugadores 02 semanas	0.952	0.320
Corrugadores 05 semanas	0.694	< .001
Corrugadores 12 semanas	0.641	< .001

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 17 - Teste U de Mann-Whitney para amostras independentes - Corrugador

		Estatística	p
Corrugadores 02 semanas	U de Mann-Whitney	45.0	0.211
Corrugadores 05 semanas	U de Mann-Whitney	52.0	0.413
Corrugadores 12 semanas	U de Mann-Whitney	50.0	0.519

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 18 - Teste de homogeneidade de variâncias - Levene - Corrugador

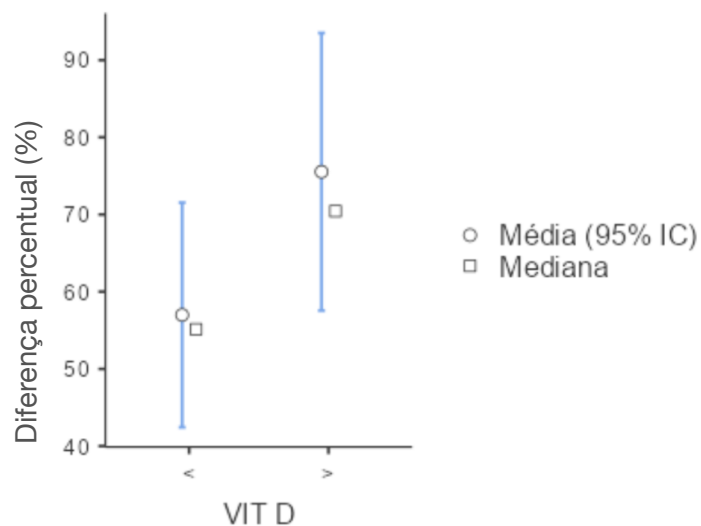
	F	gl	gl2	p
Corrugadores 02 semanas	1.28	1	21	0.271
Corrugadores 05 semanas	2.89	1	21	0.104
Corrugadores 12 semanas	3.59	1	20	0.073

Fonte: Elaborada pela autora.

Nas figuras 25, 26 e 27, é possível observar que mesmo não havendo diferença estatística significativa, em médias absolutas dos percentuais, verifica-se que o grupo vitamina D < 30 ng/mL apresenta maior diminuição de força comparado a suas próprias forças iniciais, enquanto o grupo vitamina D > 30 ng/mL apresentou menor percentual de diminuição da força, o inverso do ocorrido no músculo frontal.

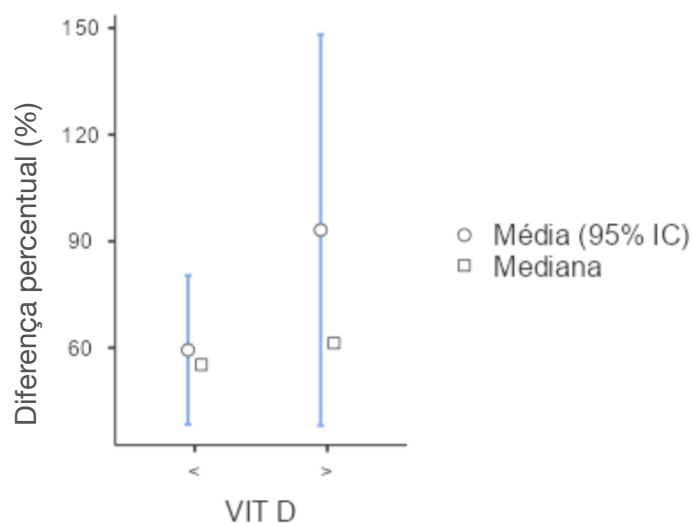
Na tabela 18, observa-se ainda que os dados apresentam uma homogeneidade de variâncias, além da ausência de diferença estatística.

Figura 25 - Gráfico de média, mediana, mínimo e máximo das diferenças percentuais - Corrugador 2 semanas x Vitamina D



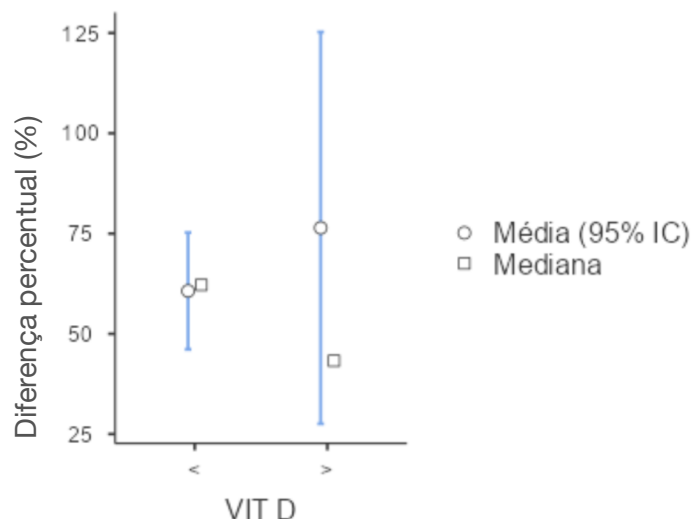
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 26 - Gráfico de média, mediana, mínimo e máximo das diferenças percentuais - Corrugador 5 semanas x Vitamina D



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 27 - Gráfico de média, mediana, mínimo e máximo das diferenças percentuais - Corrugador 5 semanas x Vitamina D



Fonte: Elaborada pela autora.

5.3 Avaliação fotográfica através do Software ImageJ

Como apresentado na Tabela 19, as 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 e 33,96% das rugas estáticas, enquanto os pacientes com vitamina D < 30 ng/mL apresentaram média de melhora de 87,46% das rugas dinâmicas e 60,77% das rugas estáticas.

Tabela 19 - Percentual de melhora das rugas em região frontal x Vitamina D

	Melhora ríides dinâmicas	Melhora ríides estáticas
Pacientes Vitamina D > 30 ng/mL	89,25%	33,96%
Pacientes Vitamina D < 30 ng/mL	87,46%	60,77%

Fonte: Elaborada pela autora.

5.4 Análise dos questionários de autoestima e satisfação

Na Tabela 20, pode-se observar os percentuais de resposta dos pacientes antes e após o tratamento sobre as questões relacionadas à autoestima, e através destes constata-se uma significativa melhora da autoestima e confiança destes.

Tabela 20 - Percentual de respostas questionário autoestima

	Antes do trat.	Após o trat.
Satisfeito e muito satisfeito com aparência	8,7%	95,6%
Presença de rugas (muitas, algumas ou poucas)	100%	60,8%
Sentia-se com a idade que tinha ou mais velho	86,9%	0%
Sentia-se mais jovem	0%	73,9%
Sentia seu rosto cansado ou muito cansado	73,9%	0%
Sentia seu rosto pouco cansado ou sem cansaço	4,3%	82,6%
Sentia-se confiante ou muito confiante	34,8%	82,6%
Sentia-se bonito(a) ou muito bonito(a)	52,1%	87%

Fonte: Elaborada pela autora.

Na Tabela 21, é possível analisar os percentuais de resposta dos pacientes após o tratamento sobre as questões relacionadas à satisfação, na qual observou-se uma grande aprovação deles ao tratamento, com alto índice de recomendação e desejo de realizar o tratamento outras vezes.

Tabela 21 - Percentual de respostas questionário satisfação

	Sim	Não
O resultado foi o esperado	95,7%	4,3%
Faria novamente o tratamento?	95,7%	4,3%
Sentiu dor durante a aplicação?	78,3%	21,7%
Sentiu dor após a aplicação?	4,3%	95,7%
Recomendaria este tratamento?	100%	0%

Fonte: Elaborada pela autora.

6 DISCUSSÃO

6.1 Toxina Botulínica

A neurotoxina derivada da bactéria *Clostridium botulinum ssp.* que inicialmente tinha ampla utilização para fins terapêuticos, após a década de 90 teve sua aprovação para fins estéticos. O tratamento das rugas de expressão facial com TB do tipo A está cada vez mais frequente em nosso meio. A evolução da qualidade das toxinas, a segurança do tratamento, com baixos índices de complicação e a motivação financeira são alguns dos fatores que tornam o uso desta droga cada vez mais frequente (*Aesthetic Plastic Surgery National Databank STATISTICS, 2020-2021*), dessa forma é necessário avaliar e correlacionar essa neurotoxina com as interações sistêmicas.

A TB é adquirida e armazenada em frasco-ampola que contém 50, 100 e 200 unidades (ui) de toxina na forma de pó liofilizado. Quando se faz a aplicação, deve-se diluir em solução salina 0,9% estéril sem conservantes. A diluição do produto pode ser em qualquer quantidade, ficando a critério do profissional injetor o quanto quer diluir. Diversos autores utilizam a diluição com volumes de solução salina variável, oscilando entre 1 mL a 20 mL para 100 ui de toxina (Kandhari et al., 2022), porém foi preconizado neste estudo a diluição sugerida pelo fabricante, promovendo uma difusão controlada na região de aplicação. Porém, a dose que será aplicada é mensurada de acordo com a necessidade que o paciente apresenta e a avaliação do profissional. Neste trabalho foi utilizada diluição de 2.0mL de solução fisiológica para injeção em 1 frasco de 100 ui de TB.

Com isso, a dose de TB utilizada variou de acordo com a extensão e a marcação do músculo a ser tratado. Quanto maior a força muscular ou mais extenso o músculo, mais rugas são expressas e maior será a dose a ser utilizada (Sătilă et al., 2020). A duração média do efeito da TB, na parte superior do terço da face, é de 3 a 4 meses (como descrito em bula Botulim® Blau Farmacêutica S/A), podendo variar por alguns fatores, incluindo a dose total ou por ponto de injeção, a morfologia de cada músculo, relação topográfica com os músculos circundantes e a

expressividade do paciente são relevantes para otimizar os resultados (Abramo et al., 2018).

Dessa forma, não foi possível realizar uma dosagem padrão para todos os pacientes do estudo, pois como mencionado, a dose precisa ser individualizada para cada paciente. Assim, foi preconizada a dosagem adequada para diminuição da força muscular da região de forma individualizada, onde utilizou-se em média 36 ui por paciente, obtendo-se dessa forma a melhora das rugas.

Si-Yeok Park (2015) demonstrou que a injeção de TB reduz a atividade do músculo masseter estudado por ele e que essa toxina também altera os componentes da fibra muscular. Dessa forma, Young-Min Moon (2015) demonstrou as alterações ocorridas histologicamente nessas fibras musculares e constatou que os músculos masseter tratados com TB, estudados por ela, eram significativamente menores do que os músculos masseter injetados com solução salina. Dessa forma, faz-se necessário a avaliação de outros fatores que estejam relacionados a espessura da fibra muscular e sua força de contração, como é o caso da vitamina D.

Os tempos de leitura selecionados foram determinados para que fosse possível avaliar a força muscular antes da intervenção e no momento onde o efeito da toxina botulínica estivesse consolidado, o qual Moon YM et al. (2015) demonstrou ser com 14 dias, pois a TB a qual ligou-se à proteína no nervo colinérgico pré-sináptico inibiu, na região aplicada, a liberação de acetilcolina nesse momento. Após a aplicação da TB do tipo A, verificou-se que a placa motora encontra-se totalmente reestruturada após 91 dias, podendo ocorrer a contração muscular de forma efetiva, o que realmente observa-se na prática clínica (De Paiva, 1999). Dessa forma, o estudo baseou-se nesse período para determinar o tempo de acompanhamento dos pacientes, o qual foi de 12 semanas. De acordo com esses tempos iniciais e finais de efeito da TB já consolidados em literatura, para que fosse possível avaliar a força durante o tratamento, foi adicionado uma avaliação no período de 5 semanas.

Em relação aos possíveis efeitos adversos da TB do tipo A, a injeção intramuscular tem um perfil de segurança aceitável, com uma das maiores margens de segurança já conhecidas para um medicamento prescrito. No entanto, o injetor precisa ter um amplo conhecimento anatômico teórico e prático, para não paralisar músculos e glândulas adjacentes ao músculo de eleição. Em geral as reações

adversas ocorrem dentro dos primeiros dias após a injeção e geralmente são transitórias. Conforme esperado para qualquer injeção, pode ocorrer dor no local de aplicação, sensibilidade anormal à compressão e/ou infecção no local. Durante a aplicação da TB, uma leve sensação de desconforto, dolorosa, pode aparecer, porém isto está diretamente ligado à sensibilidade de cada paciente. As reações mais comuns são: Ptose palpebral (pálpebra caída), equimose (mancha arroxeadas na pele), dor na extremidade, fraqueza muscular, hipertonia (aumento da rigidez muscular) e dor no local da aplicação.

Como orientação pós-operatória, os pacientes foram instruídos a não manipular a face, não se deitar e evitar abaixar a cabeça, bem como não realizar atividades físicas no dia da aplicação. Estes cuidados foram tomados pois já foram descritos em literatura alguns casos em que a toxina se difunde para músculos que não deveriam ser tratados, levando a resultados desarmônicos, assimetrias e outras complicações (Ferreira et al., 2004) citadas no parágrafo anterior. Para o controle de reaplicação, padronizamos o período de quatro meses da última aplicação, quando o paciente se queixar de forma espontânea da presença de rugas nas regiões frontal e glabellar, ou quando ao exame da musculatura facial verificar-se rugas hipercinéticas nestas regiões, pode ser indicada uma nova aplicação (Gimenez et al., 2006).

Na última década é um dos agentes farmacêuticos mais estudados, com mais de 3000 artigos publicados, mais de 30 anos de uso clínico e mais de 10 milhões de tratamentos com TB do tipo A apenas no ano de 2012 (Dayan, 2013). Em vista disso, esse embasamento científico nos traz segurança de aplicação.

6.2 Eletromiografia de superfície

Neste trabalho, a análise eletromiográfica foi muito importante para avaliar o padrão de atividade muscular resultante da força de contração dos músculos frontais e corrugadores. A EMG é uma ferramenta que permite a realização de estudo integrado do paciente nas diferentes situações clínicas analisadas. Embora vários trabalhos tenham avaliado os efeitos da TB, poucos estudos foram conduzidos para

determinar a eficácia e a durabilidade no longo prazo de TB na face, o acompanhamento da força muscular e a análise das vitaminas de cada indivíduo.

Essa falta de informação sobre a atividade muscular possivelmente é devido às limitações das técnicas de registro disponíveis, que requerem restrições físicas ou conexões de cabos, restringindo assim os estudos de EMG. Porém, a EMG nos traz a mensuração em Root mean square (RMS), os quais foram relatados como indicadores altamente confiáveis e reprodutíveis da atividade muscular (Si-Yeok Park et al., 2015), sendo dessa forma selecionados para análise estatística neste estudo.

Em todas as atividades cíclicas que são muito reprodutíveis em seus movimentos, a atividade EMG pode ser usada para derivar uma estimativa de força (Disselhorst-Klug et al., 2009), dessa forma o movimento de contração dos músculos frontais e corrugadores puderam ser avaliadas.

Na condição clínica de repouso a atividade eletromiográfica deve ser mínima ou ausente, com os músculos espontaneamente relaxados (Vitti, Basmajian, 1975; Carr, 1991), ou seja, não há contrações de unidades motoras (Thompson, 1981). O silêncio eletromiográfico é característico desta posição postural, caracterizando uma condição inativa da musculatura sendo basicamente uma posição de equilíbrio passivo, governada pela gravidade e forças elásticas dos músculos associados a outros tecidos. Antes do início do tratamento, observamos a atividade eletromiográfica em todos os músculos estudados para a partir disso realizar as seguintes comparações em relação à força, dessa forma pode ser avaliado se o paciente apresenta alguma deficiência em relação a essas forças. Caso esse paciente apresentasse alguma alteração no momento inicial, ele seria dispensado do estudo, porém não foi necessário dispensar nenhum dos pacientes selecionados.

A força muscular pode ser estimada a partir dos sinais de EMG em situações bem definidas durante contrações isométricas, dessa forma, é possível avaliar através de RMS os dados obtidos através do movimento desejado.

De acordo com os dados obtidos no estudo observou-se a diminuição da força de contração muscular de todos os pacientes em relação a aferição inicial comparada a 2 semanas, momento onde a toxina botulínica está no seu maior potencial de ação, em ambos os músculos avaliados, dessa forma é possível constatar a efetividade da toxina botulínica em diminuir a força muscular através do seu potencial de ação.

Na Figura 8, observa-se que o momento de aferição imediatamente após a aplicação mostra um pequeno aumento de força, o qual não é significativo estatisticamente, porém pode estar associado a uma contração protetora, a qual é uma associação agônica e sinérgica dos músculos com o objetivo de proteger órgão lesionados ou ameaçados de danos. É o que acontece diante de uma anestesia pterigomandibular, apesar da chance ser de lesionar os músculos pterigóideo medial, a reação de contração protetora é a limitação de abertura. A presença das alterações periféricas intramusculares é um importante fator de diagnóstico diferencial. Quando o local palpado apresenta o sintoma, podemos caracterizar como dor muscular localizada. Para McNeill (1997) o tratamento da contração protetora tem por objetivo eliminar a etiologia (causas proprioceptivas) ou permitir a cicatrização da área afetada (causas nociceptivas), o que pode ser associado com a agressão sofrida pelos músculos frontal e corrugadores após a aplicação de TB.

Os gráficos que são obtidos através da EMG mostram alta uniformidade e consistência entre os exames repetidos, indicando que esse tipo de estudo é repetível e confiável, embora alguns pacientes possam usar um lado de um músculo com mais frequência do que o outro lado (Yen et al., 2015), o que não altera nossos resultados já que foi utilizada a média dos músculos para os cálculos estatísticos deste estudo, como explicado na metodologia.

Dessa forma, a análise de EMG é útil na avaliação pré-operatória, acompanhamento pós-operatório e avaliação de resultados, o que pode facilitar o desenvolvimento de programas de reabilitação e fisioterapia (Yen et al., 2015), bem como facilitar a análise muscular auxiliando nas terapias estéticas e avaliação da influência sistêmica dos grupos musculares analisados, como relatado.

6.3 Vitamina D

A vitamina D é um hormônio, especialmente importante para a saúde gastrointestinal, ajudando o corpo a absorver cálcio, aliviando os sintomas da doença do intestino irritável e está até mesmo ligada à prevenção de muitos tipos de câncer, incluindo câncer de cólon e disfunções musculares. Todavia, receptores

correspondentes deste hormônio estão em toda parte do corpo humano, favorecendo seu metabolismo de uma maneira adequada. A vitamina D contribui para o desenvolvimento da força muscular, porque atua na formação das próprias fibras musculares – as células estruturais do órgão. Da mesma forma que atua em relação aos ossos, ela faz parte do processo básico e primordial da construção de novos tecidos, a partir do controle do fornecimento de cálcio e fósforo ao organismo. (Curry et al., 1974)

Com isso, diante da importância da vitamina D na construção de tecidos, o mesmo processo é importante para a contração e proliferação das fibras musculares. Ela é necessária quando um exercício de força provoca pequenas lesões no tecido. A vitamina D, então, auxilia no processo de reparação indiretamente, já que é importante na constituição de células do tecido muscular que sintetizam as proteínas regeneradoras durante a atividade física. Essa regeneração é o que leva ao aumento da massa muscular (Ross et al., 2011).

Por sua vez, a falta de vitamina D, desequilibra o fluxo de cálcio e potássio no corpo. Isso potencializa a atrofia e a fraqueza dos músculos. Depois dos 30 anos, se não corrigida essa deficiência (e somada à má alimentação e sedentarismo), gradualmente pode-se desencadear a Sarcopenia (Manson et al., 2011).

As primeiras associações entre vitamina D e função muscular foram feitas a partir de observações de fraqueza muscular em crianças com raquitismo, bem como em adultos com osteomalácia (Mayer et al., 2008), apresentando-se predominantemente como uma fraqueza muscular proximal ou dificuldade em subir escadas. Sabe-se que a deficiência de vitamina D causa fraqueza muscular, hipotonia e tempo prolongado para o pico de contração muscular, como tempo prolongado para relaxamento muscular. (Bischoff-Ferrari et al., 2006).

Segundo Parfitt, a deficiência de vitamina D menos grave é chamada apenas de insuficiência de vitamina D, o que pode causar hiperparatireoidismo secundário, aumento da remodelação óssea e perda óssea principalmente de cortical de locais como o colo do fêmur.

Em 1974, os autores ilustraram alterações eletromiográficas em pacientes com fraqueza muscular associada à osteomalácia (Floyd et al., 1974), que melhorou com a suplementação de vitamina D (Irani, 1976).

Tomlinson verificou através de uma revisão sistemática com metanálise que a suplementação de vitamina D3 melhora a força muscular dos membros superiores e inferiores em um adulto saudável, população atlética e não atlética. Porém afirma que existe a necessidade de uma investigação mais aprofundada sobre a força muscular e resistência com relação à vitamina D (Tomlinson et al., 2014).

A vitamina D3 é sintetizada na pele sob a influência da radiação UV do sol principalmente durante a primavera e o verão (Chapuy et al., 1997). A dieta, especialmente com peixes gordurosos, também contém vitamina D3, e alguns alimentos, principalmente laticínios, são enriquecidos com vitamina D. Com isso, a luz solar abundante nos faz acreditar que essas questões são um problema restrito a países de latitudes mais altas. No entanto, Lips et al. (2001) e van der Wielen et al. (2001) demonstraram que os países do sul da Europa apresentam maior incidência de hipovitaminose D quando comparado para os países do norte, por exemplo.

Os dados obtidos por Bischoff (2006), sugeriram que a concentração alvo mais vantajosa de vitamina D começa em 75 nmol/L (30 ng/mL) e que as melhores concentrações estão entre 90 e 100 nmol/L (36 – 40 ng/mL). Dessa forma, os grupos selecionados para o estudo seguiram as recomendações da sociedade brasileira de endocrinologia e de diversos estudos que indicam os níveis adequados de vitamina D, separando os pacientes em dois grupos: vitamina D > 30 ng/ml e vitamina D < 30 ng/ml.

Logo, os dados estatísticos obtidos neste trabalho demonstraram, como pode ser observado na figuras 13 e 17, que a força muscular dos pacientes do grupo de vitamina D > 30 ng/mL antes de qualquer intervenção corroboram com os autores citados previamente.

Com isso, de acordo com a individualização da dose de TB e os registros feitos no estudo, foi utilizada uma dose média de 40 ui para o grupo dos pacientes com vitamina D > 30 ng/mL e uma dose média de 35 ui para o grupo dos pacientes com vitamina D < 30 ng/mL, sendo demonstrado pela primeira vez a diferença necessária de TB entre pacientes com níveis séricos adequados e deficientes de vitamina D.

Nas figuras 7, 9 e 10, é possível observar a diminuição da força muscular no músculo frontal após o tratamento e observar um pequeno aumento da média da força ao longo dos períodos de avaliação, os quais não foram estatisticamente

relevantes, porém demonstram o início da reinervação sináptica muscular, corroborando com Paiva (1999).

No gráfico 7, relacionado ao músculo corrugador, observa-se a efetividade do tratamento em 2 semanas, porém há presença de dados outliers, os quais se devem aos pacientes que tiveram a necessidade de retoque de toxina botulínica nessa região no dia do primeiro retorno com 2 semanas.

Na análise dos dados em diferenças percentuais do músculo frontal, mesmo não havendo diferença estatística significativa, foi possível observar que a perda de força foi muito mais significativa para pacientes com a vitamina D > 30 ng/mL, o que leva-se à acreditar no fato de que a aplicação da TB nivela a atividade muscular de ambos os grupos à médias de força de contração mais parecidas, e como a força é muito maior antes da aplicação nos pacientes com vitamina D > 30 ng/mL, a perda consequentemente é maior também, isso pode ser observado nas figuras 21-26.

6.4 Avaliação fotográfica

Um dos métodos de avaliação de efetividade da toxina botulínica foi a análise da documentação fotográfica. As fotos foram realizadas antes da primeira aplicação e 2 semanas após a aplicação, dessa forma foi possível avaliar a melhora das rugas dinâmicas e estáticas na mímica facial. Portanto, foram avaliadas rugas frontais livre do efeito da toxina e rugas frontais sendo avaliadas quando o resultado da toxina botulínica estava em seu ápice.

Para realização das análises fotográficas foi utilizado o software ImageJ, consagrado com mais de 25 anos em atividade, o programa se reinventou continuamente e aderiu a um conjunto básico de princípios de design que permitiram que ele se tornasse uma plataforma de processamento de imagem moderna e ainda mantivesse uma interface que um usuário de mais de 20 anos atrás reconheceria e poderia usar prontamente (Schneider et al., 2012).

Ele é um *software* de domínio público amplamente utilizado, que permite aos usuários visualizar, inspecionar, quantificar e validar dados de imagens científicas. Sua principal característica desde o início foi, e ainda é, que ele pode ser

configurado pelos usuários para atender às necessidades específicas de suas análises. O ecossistema ImageJ abrange uma ampla gama de usuários com vários conhecimentos de programação: desde o biólogo de bancada com pouca ou nenhuma experiência em programação aproveitando os plug-ins pré-definidos, até usuários avançados que personalizam seus pipelines de análise de imagem e automatizam fluxos de trabalho inteiros dentro do ImageJ (Schroeder et al., 2021). Utilizando esse software pudemos mensurar através de áreas de rugas a porcentagem de melhora das rugas dinâmicas e estáticas e assim constatar a melhora que houve na região avaliada, comprovando a grande efetividade da TB nas rugas dinâmicas e seu papel secundário na melhora das rugas estáticas.

O uso do ImageJ, traz possibilidades de análises fotográficas com precisão e com resultados, os quais corroboram com os outros resultados até aqui apresentados de que a TB, quando bem indicada, dosada de modo correto e aplicada nos pontos estratégicos, auxilia e muito na melhora das rugas faciais dos pacientes. Neste contexto, após a realização das medições nas fotos de cada paciente, em repouso e em contração, calculado o percentual de melhora e feita a média de melhora das rugas, separadas por grupo vitamina D > 30ng/mL e vitamina D < 30ng/mL, demonstrou-se na tabela 19 que os pacientes com vitamina D > 30 ng/mL apresentaram uma média de melhora de 89,25% das rugas dinâmicas e 33,96% das rugas estáticas, enquanto os pacientes com vitamina D < 30 ng/mL apresentaram média de melhora de 87,46% das rugas dinâmicas e 60,77% das rugas estáticas.

No caso das rugas estáticas, essas de fato podem ser amenizadas pela aplicação da TB, mas é necessário associar outras intervenções que estimulem o colágeno da região tratada, como por exemplo sessões de microagulhamento, aplicação de ativos manipulados para neocolagenase, lasers, ultrassom microfocado, entre outros para tratá-las completamente, pois envolvem fatores do envelhecimento facial e qualidade e espessura da pele e não mais apenas a contração, força ou atividade muscular.

6.5 Questionários

A aparência é importante em nossa sociedade e influencia a forma como somos vistos pelos outros. A pele é o órgão mais visível do corpo e determina, em grande medida, a nossa aparência. Já se sabe que pacientes com doenças de pele costumam comparar sua aparência física com a aparência idealizada pela sociedade e resultar em impacto negativo em sua auto-estima (Basavaraj et al., 2010). Outra análise da autoestima que pode possivelmente explicar o fato da grande melhora nesse quesito após o tratamento, é que lesões cutâneas apresentam impacto nas emoções dos pacientes, influenciam a percepção corporal e ao se compararem antes do procedimento se sentiam constrangidas com tendência a baixos níveis de autoestima (Bolton et al., 2010).

Essa pode ser a razão por que esses pacientes recorrem a procedimentos cosméticos para uma solução para suas aparências envelhecidas. Além disso, as mulheres de meia-idade sentem que sua aparência é fundamental para como elas são avaliadas por outras pessoas no trabalho. A perda da juventude é significativa por causa de estereótipos negativos, mitos associados com envelhecimento e as realidades psicossociais críticas deste crescente grupo. Para as mulheres, os sinais de envelhecimento da pele foram percebidos como sendo sintomáticos da perda de feminilidade, poder social e visibilidade social (Honigman et al., 2006).

Os indivíduos desse estudo ficaram muito satisfeitos com o tratamento, como demonstrado na Tabela 21. Além disso, enquanto mais de 73% dos participantes achavam que o tratamento lhes trazia mais "juventude", mais de 82% também achavam que se sentiam mais descansados após 2 semanas da aplicação. Associado a esses fatores houve um aumento de 47,8% em relação à autoconfiança dos pacientes, fato que também é demonstrado pelos autores Molina et al. (2015) e Hexsel et al. (2018), e é apresentado com outros dados do questionário na Tabela 20.

Em relação ao tratamento, 100% dos pacientes recomendariam o tratamento para outras pessoas e mais de 95% teve o resultado que esperava e realizaria o tratamento novamente, demonstrando que a aplicação de TB é efetiva e amplamente procurada (Tabela 21).

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.

ANEXO A - Certificado de Comitê de Ética

INSTITUTO DE CIÊNCIA E
TECNOLOGIA - CAMPUS DE
SÃO JOSÉ DOS CAMPOS -
UNESP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da força muscular antes e após a aplicação de toxina botulínica.

Pesquisador: Marcelle Simões Coelho

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 58828122.0.0000.0077

Instituição Proponente: Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.704.959

Apresentação do Projeto:

Avaliação da força muscular antes e após a aplicação de toxina botulínica.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo deste trabalho será mensurar a força muscular do terço superior da face, antes e após a aplicação de toxina botulínica, com medição de controle antes da aplicação, imediatamente após a aplicação, 14 dias, 5-6 semanas, 12-15 semanas após a aplicação. [Texto extraído de "Informações Básicas Sobre o Projeto"]

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo os proponentes, os riscos associados à participação do presente protocolo de pesquisa são considerados médios, devido a aplicação da toxina botulínica, que pode gerar alguns efeitos adversos ou secundários após a aplicação, como pequenas marcas transitórias no local da aplicação, hematomas, inflamação, ou reação não desejadas descritas na bula, esses efeitos são comumente transitórios e totalmente reversíveis. Informamos ainda, que há benefícios direto ao Sr.(a) por participar do estudo, visto que a toxina botulínica é responsável por paralisar e/ou diminuir o tônus muscular e dessa maneira faz com que as rírides dinâmicas, que acontecem durante os movimentos faciais, sejam amenizadas ou desapareçam além de diminuir as marcas das rírides estáticas, aquelas presentes mesmo com os músculos mímicos da face em repouso, além do benefício associado que será de contribuir com o conhecimento científico da sociedade

Endereço: Av.Engº Francisco José Longo 777 - Ramal 9028

Bairro: Jardim São Dimas

CEP: 12.245-000

UF: SP

Município: SAO JOSE DOS CAMPOS

Telefone: (12)3947-9078

Fax: (12)3947-9000

E-mail: ceph.ict@unesp.br

**INSTITUTO DE CIÊNCIA E
TECNOLOGIA - CAMPUS DE
SÃO JOSÉ DOS CAMPOS -
UNESP**



Continuação do Parecer: 5.704.959

[Texto extraído do "TCLE"].

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto foi revisado à luz dos questionamentos apresentado no parecer anterior. Sua forma atual não contém nenhuma pendência ou inadequação no ponto de vista ético da pesquisa envolvendo seres humanos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide conclusões ou pendências e lista de inadequações

Recomendações:

Vide conclusões ou pendências e lista de inadequações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A pesquisadora, atendeu as pendências apontadas no parecer anterior, deixando dessa forma o protocolo adequado para sua execução.

Considerações Finais a critério do CEP:

O (a) pesquisador(a) irá receber e-mail da Secretaria do CEPH-ICT-CAMPUS DE SJCAMPOS-UNESP, para envio de relatórios parciais/final, para não incorrer na penalidade de não o fazendo, em não ter novas submissões avaliada pelo Comitê de Ética, até que sane a pendência de envio do relatório, na forma de notificação através do sistema da Plataforma Brasil. Obs:- No site <https://www2.ict.unesp.br/> – Sobre o ICT – Comissões e Comitês - Comitê de Ética Envolvendo Seres Humanos, encontrará o formulário para envio do Relatório parcial/final.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	tcle_reformulado.pdf	08/09/2022 14:16:51	CARLOS ALBERTO GUEDES	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_1946701.pdf	06/09/2022 12:23:51		Aceito
Outros	formulario_respondido.pdf	06/09/2022 12:22:14	Marcelle Simões Coelho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoMarcelle_reformulado.pdf	06/09/2022 12:20:38	Marcelle Simões Coelho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TermodeConsentimentoLivreEsclarecido v2.pdf	06/09/2022 12:19:14	Marcelle Simões Coelho	Aceito

Endereço: Av.Engº Francisco José Longo 777 - Ramal 9028
Bairro: Jardim São Dimas **CEP:** 12.245-000
UF: SP **Município:** SAO JOSE DOS CAMPOS
Telefone: (12)3947-9078 **Fax:** (12)3947-9000 **E-mail:** ceph.ict@unesp.br

**INSTITUTO DE CIÊNCIA E
TECNOLOGIA - CAMPUS DE
SÃO JOSÉ DOS CAMPOS -
UNESP**



Continuação do Parecer: 5.704.959

Ausência	TermodeConsentimentoLivreEsclarecido v2.pdf	06/09/2022 12:19:14	Marcelle Simões Coelho	Aceito
Outros	formulariorespondido_.docx.docx	06/07/2022 18:14:21	Marcelle Simões Coelho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	assentimento.pdf	13/05/2022 09:53:31	Marcelle Simões Coelho	Aceito
Folha de Rosto	MarcelleSimoesCoelho.pdf	12/05/2022 15:52:43	Marcelle Simões Coelho	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita apreciação da CONEP:

Não

SAO JOSE DOS CAMPOS, 17 de Outubro de 2022

**Assinado por:
Denise Nicodemo
(Coordenador(a))**

Endereço: Av.Engº Francisco José Longo 777 - Ramal 9028
Bairro: Jardim São Dimas **CEP:** 12.245-000
UF: SP **Município:** SAO JOSE DOS CAMPOS
Telefone: (12)3947-9078 **Fax:** (12)3947-9000 **E-mail:** ceph.ict@unesp.br