

Comparação entre a dose e a distribuição de pontos de aplicação de toxina botulínica tipo A na eficácia para o tratamento de ríntides glabellares. Ensaio clínico randomizado duplo cego

Comparison between dose and distribution of botulinum toxin type A application points in efficacy for the treatment of glabellar rhytids. Double blind randomized clinical trial

DOI:10.34117/bjdv6n7-232

Recebimento dos originais: 10/06/2020

Aceitação para publicação: 10/07/2020

Eduardo Benassi dos Santos

Mestre em Odontologia; Residente em Reabilitação Oral – Prótese Dentária e Dentística

Restauradora, Cascavel-PR, Brasil

Instituição: Unioeste. Cascavel-PR, Brasil

Endereço: Rua Doutor Basílio Rambo, 92, Bairro Jardim Gisele. CEP: 85905-140 – Toledo-PR

Email: benassi.odonto@gmail.com

Willian Ortega Souza

Mestrando em Harmonização orofacial

Instituição: European Institute

Endereço: Porto, Portugal

Camila Alexandra Martins Dias

Cirurgiã Dentista; Especialista em ortodontia

Instituição: Unipar; Spassodonto

Endereço: Cascavel-PR, Brasil

Wagner Baseggio

Doutor em Dentística Restauradora; Professor Titular do Curso de Odontologia

Instituição: FOB/USP; Unipar

Endereço: Cascavel-PR, Brasil

Fabiana Scarparo Naufel

Doutora em Dentística Restauradora; Professora do Curso de Odontologia e da Pós-graduação

Instituição: USP; Unioeste

Endereço: Cascavel-PR, Brasil

RESUMO

A toxina botulínica tem sido empregada de forma segura e eficaz para o tratamento das ríntides glabellares. Entretanto, a prática clínica tem sido variada, permanecendo dúvidas sobre a dose ótima desejável bem como a quantidade de pontos de aplicação. O objetivo desse trabalho é, portanto, avaliar o efeito da concentração e dos pontos de aplicação da toxina botulínica na região glabellar sobre a diminuição das linhas de expressão. Quarenta voluntários foram randomicamente divididos em 4

grupos, a saber : G1: injetado um ponto de aplicação no músculo prócero com 5U e um ponto de aplicação em cada músculo corrugador com 5U por ponto; G2: um ponto de aplicação no prócero com 5U e dois pontos de aplicação em cada músculo corrugador com 2,5U em cada ponto; G3: injetado um ponto de aplicação no músculo prócero com 7U e um ponto de aplicação em cada músculo corrugador com 7U por ponto; G4: um ponto de aplicação no prócero com 7U e dois pontos de aplicação em cada músculo corrugador com 5U em cada ponto. Os participantes foram avaliados nos tempos baseline e nas semanas 2, 8, 16 pelo método Facial Wrinkle Scale. Os resultados desse estudo sugerem que entre as dosagens estudadas, 21 U aplicadas em um ponto por músculo é a dose mais efetiva para o tratamento da região glabellar, com durabilidade de 4 meses.

Palavras-chave: Toxinas botulínicas tipo A, Neurotoxinas, Formas de dosagem.

ABSTRACT

Botulinum toxin has been used safely and effectively for the treatment of glabellar rhytids. However, clinical practice has been varied, leaving doubts about the optimal dose and the number of injection points. The objective of this work is, therefore, to evaluate the effect of concentration and application points of botulinum toxin in the treatment of glabellar rhytids. Forty volunteers were randomly divided into 4 groups: G1: one injection point in procerus muscle (5U) and one injection point in corrugator muscle (5U); G2: one injection point in procerus muscle (5U) and two injection points in corrugator muscle (2.5U per point); G3: one injection point in procerus muscle (7U) and one injection point corrugator muscle (7U per point); G4: one injection point in procerus muscle (7U) and two injection points in corrugator muscle (5U per point). Participants were assessed at baseline and weeks 2, 8, 16 by the Wrinkle Scale Facial method. The results of this study suggest that at the dosages studied, 21U applied at one point per muscle is an effective dose for the treatment of the glabellar region, lasting 4 months.

Keywords: Botulinum Toxins Type A, Neurotoxins, Dosage forms.

1 INTRODUÇÃO

A região glabellar é caracterizada por uma área de intensa contração muscular, favorecendo a formação de linhas de expressão. As ríntides glabellares repercutem negativamente na estética da face, sendo muitas vezes os indivíduos considerados bravos, cansados ou ansiosos quando não estão de fato nessa situação (ASCHER *et al.*, 2004); (GUO *et al.*, 2015); (RUBIN,2009). Para isso, a toxina botulínica tem sido empregada de forma segura e eficaz para o tratamento dessas linhas de expressão (ASCHER, 2004); (CARRUTHERS; CARRUTHERS, 2006) (CARRUTHERS; CARRUTHERS; SAID, 2005); (CARRUTHERS *et al.*, 2002); (LOWE; PATNAIK; LOWE, 2006).

Essa toxina é produzida por uma bactéria do gênero *Clostridium*. Sendo classificada de acordo com suas formas sorológicas distintas, diferindo não apenas em sua estrutura molecular como também em seu mecanismo de ação, capacidade de sensibilização imunológica, além da duração e eficácia dos seus efeitos (MARQUES,2014). Atualmente são identificados e conhecidos oito sorotipos produzidos por diferentes cepas de *Clostridium botulinum*, a saber: A, B, C1, C2, D, E, F e G (MARQUES,2014); (WHEELER, 2013). Destes, somente os sorotipos A e B são amplamente

estudados e os únicos aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) como seguros e eficientes para os empregos terapêuticos e estéticos em seres humanos (MARQUES,2014).

Sobre seu modo de ação, a toxina botulínica bloqueia a liberação do neurotransmissor acetilcolina na junção neuromuscular, diminuindo a contração do músculo. O grau de redução dessa contração e, conseqüentemente, o impacto no efeito clínico varia em função da dose injetada (CARRUTHERS *et al.*, 2002). Com isso, vários estudos têm sido realizados para contribuir com a definição de um protocolo de tratamento. (MONHEIT *et al.*, 2007);(KANE *et al.*, 2009).

Doses de 50 a 70U de toxina botulínica do tipo A para mulheres e 60 a 80U para homens aplicadas em 5 pontos, sendo dois em cada músculo corrugador e um no músculo prócero, mostraram-se eficazes, duradouras e seguras para o tratamento de rírides glabellares (KANE *et al.*, 2009).

Por outro lado, Ascher *et al.*, 2004, relatou eficácia e segurança para as dosagens de 25U, 50U e 75U, sugerindo que 5 injeções intramusculares sendo duas em cada músculo corrugador e uma no músculo prócero com 10U em cada ponto, totalizando 50 U, são mais eficazes e apresentam maior resposta ao tratamento de linhas de expressão nessa região, sendo considerada pelo autor a dose ideal.

Uma metanálise utilizando ensaios clínicos randomizados de 2002 a 2014 mostra que 20U de toxina tipo A foram consideradas adequadas para o tratamento de rírides glabellares, e sugere que mais estudos avaliando a dosagem sejam realizados (GUO *et al.*, 2015).

Dessa forma, um protocolo para região se faz necessário a fim de guiar de maneira mais precisa os profissionais e expor o paciente a menores doses de toxina, alcançando um resultado satisfatório, uma vez que a prática clínica tem sido variada no que se refere à dose e ao número de pontos de aplicação, sem uma padronização. (MONHEIT *et al.*, 2007).

Embora muitos estudos tenham demonstrado a segurança e a efetividade do uso dessa toxina para o tratamento das linhas de expressão da região glabellar, ainda permanecem dúvidas na literatura científica especializada sobre a dose ótima desejável bem como a quantidade de pontos de aplicação, especialmente por estudos clínicos randomizados.

O objetivo desse trabalho é, portanto, avaliar o efeito da concentração e dos pontos de aplicação da toxina botulínica na região glabellar sobre a diminuição das linhas de expressão.

2 METODOLOGIA

2.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi realizado de acordo com a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde/Ministérios da Saúde de 12 de dezembro de 2012, que dispõe sobre os aspectos éticos das pesquisas com seres humanos. O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, com protocolo de registro CAAE: 15667119.6.0000.0107.

O método do estudo, os objetivos bem como os potenciais riscos aos participantes foram previamente discutidos com cada paciente, e o termo de consentimento livre e esclarecido foi obtido.

2.2 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um ensaio clínico prospectivo, randomizado, controlado, duplo-cego para avaliador e paciente.

2.3 CRITÉRIO DE ELEGIBILIDADE DOS VOLUNTÁRIOS

Um total de 40 pacientes foram selecionados, e randomicamente divididos em 4 grupos. Para serem elegíveis os pacientes tinham que ter entre 18 e 55 anos (CARRUTHERS; CARRUTHERS, 2006); (LOWE; PATNAIK; LOWE, 2006); (RAPPL et al., 2019), que possuíam ríides na região glabellar de moderadas a severas, em máxima contração muscular. Não havia nenhuma condição para ríides glabellares na posição de repouso. Foram excluídos do estudo os pacientes que apresentaram: procedimento estético facial planejado durante o estudo; grávidas; lactantes; pessoas que tenham cicatrizes visíveis que possam interferir com a avaliação ou resposta; dermatocalaze; ptose palpebral; alteração sistêmica que possa interferir na função neuromuscular; histórico de paralisia do nervo facial; infecção sistêmica ou na região de injeção; tratamento prévio com toxina botulínica num período de 12 meses; ou fazer uso de antibióticos a base de aminoglicosídeos ou espectinomicina. Também foram excluídos os indivíduos que apresentavam alergia a algum dos componentes do medicamento empregado.

2.4 CÁLCULO AMOSTRAL

A definição da população de estudo (n=40) foi obtido baseado na literatura, especificamente nos trabalhos de Hankins, Strimling, Rogers 1998, (n= 46); Rappl *et al.*, 2013 (n=21).

2.5 PREPARO DOS MATERIAIS

A toxina botulínica empregada BOTULIFT® (Laboratório Químico Farmacêutico Bergamo Ltda) foi conservada em temperatura entre 2 a 8°C, apresentada como um pó branco liofilizado, em um frasco-ampola incolor e transparente.

Sua reconstituição foi realizada no método de unidades americanas na proporção de 1ml de cloreto de sódio 0,9% estéril para 100 U da toxina botulínica, seguindo-se a recomendação do fabricante. Após reconstituição, foi obtida uma solução límpida e livre de material particulado. O material foi empregado imediatamente após a sua reconstituição.

2.6 RANDOMIZAÇÃO E MASCARAMENTO

Os 40 voluntários foram identificados de 1 a 40, randomizados por sorteio e alocados em 4 grupos (codificados em G1, G2, G3 e G4) (n=10), a saber: G1: um ponto de aplicação no músculo prócero (5U) e um ponto de aplicação em cada músculo corrugador (5U cada); G2: um ponto de aplicação no músculo prócero (5U) e dois pontos de aplicação em cada músculo corrugador (2.5U); G3: um ponto de aplicação no músculo prócero (7U) e um ponto de aplicação no músculo corrugador (7U); G4: um ponto de aplicação no músculo prócero (7U) e dois pontos de aplicação no músculo corrugador (5U cada).

Tabela 1. Distribuição de dosagens e pontos de aplicação referente a cada grupo.

Grupo	Quantidade de pontos de aplicação no músculo prócero	Unidades injetadas por ponto de aplicação	Quantidade de pontos de aplicação em cada músculo corrugador	Unidades injetadas por ponto de aplicação	Total de Unidades
G1	1	5U	1	5U	15U
G2	1	5U	2	2,5U	15U
G3	1	7U	1	7U	21U
G4	1	7U	2	5U	27U

A dose mínima empregada nesse estudo foi de 15U e a dose máxima de 27U, baseado nos estudos que evidenciam variabilidades entre 10 e 100U para a região (GUO *et al.*, 2015);(CARRUTHERS; CARRUTHERS; SAID, 2005).

2.7 INJEÇÃO

Um cirurgião dentista habilitado em toxina botulínica nº 1 (CD1) preparou todas as seringas de insulina idênticas (Seringas BD Ultra-fine TM 30U (agulha 6x0,25mm. 31G. 30 UI -Unidade de insulina), com as doses determinadas pelo grupo e as identificou pelo número correspondente do grupo. Apenas ele conheceu os códigos. Na hora do procedimento, o mesmo CD1, previamente calibrado e capacitado, efetuou as aplicações nas regiões conforme proposto para cada grupo.

As aplicações foram realizadas introduzindo a agulha 90° contra a superfície dos músculos, com profundidade total da agulha, seguido pela aplicação das unidades respectivas para cada grupo.

2.8 TEMPOS DE AVALIAÇÃO

Os voluntários foram avaliados pelos CDs 2 e 3 nos tempos baseline e nas semanas 2, 8, 16. Em cada visita os pacientes serão fotografados e gravados de forma padronizada com uso de Iluminador Led Ring Light Quanta 40w e iPhone 8 Apple com iOS 11, Câmera de 12 MP em posição de máxima contração muscular para avaliações das ríides estáticas e dinâmicas.

2.9 EFICÁCIA

A severidade das ríides foi avaliada e registrada seguindo o critério four-point rating scale (Facial Wrinkle Scale) onde 0= *no facial wrinkles* (Rugas não são visíveis); 1= *mild facial wrinkles* (Rugas são visíveis); 2= *moderate facial wrinkles* (Rugas são claramente visíveis. A profundidade das rugas pode ser avaliada a partir da superfície); e 3= *severe facial wrinkles* (Rugas são claramente visíveis. A profundidade das rugas não pode ser avaliada a partir da superfície (Lemperle *et al.*, 2001);(HONECK *et al.*, 2003); (CICCHETTI; ALLISON, 1971), durante cada visita, nas posições de repouso e em força máxima de contração da região glabellar. Para se alcançar a máxima contração os indivíduos foram orientados a contrair a região sem fechar os olhos. Uma fotografia padronizada foi realizada nas duas posições para auxiliar nos registros e em possíveis dúvidas que pudessem surgir em relação à avaliação da região.

Honeck *et al.*, 2003, desenvolveram uma escala para análise de linhas de expressão glabellar, baseada em fotografias padronizadas, empregada para treinar 28 dermatologistas. De forma geral, os autores concluíram que a escala apresentou uma boa concordância e reprodutibilidade na avaliação inter-examinador κ 0.62 (FLEISS, 1971). E intra-examinador κ 0.57–0.91 (COCHEN ,1960), κ 0.68–0.94 (CICCHETTI; ALLISON, 1971).

2.10 CALIBRAÇÃO DOS AVALIADORES

A calibragem dos avaliadores foi realizada por meio da análise de 15 fotografias e vídeos contendo expressões da mímica facial. Cada critério Four-point Facial Wrinkle Scale (HONECK *et al.*, 2003) foi analisado em 15 pacientes com toxina botulínica aplicada, não incluídos na pesquisa, necessitando haver concordância pelo coeficiente Kappa de 0,6% ou superior entre os avaliadores.

2.11 PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO

Os dados coletados foram registrados, tabulados em planilhas do software Excel for Windows e submetidos à estatística descritiva sob o teste de Kruskal-Wallis e complementar de Tukey (5%).

3 RESULTADOS

A mediana dos escores obtidos por meio da escala para análise da região glabellar em função do tempo estão expostas na tabela 1.

Os grupos apresentaram valores iniciais no tempo baseline sem diferenças estatisticamente significativas entre si, o que evidencia uma boa homogeneidade dos grupos amostrais.

Tabela 2. Mediana dos resultados obtidos pela escala Facial Wrinkle Scale em função do tempo e do grupo testado

Grupos	Rugas Iniciais	2 Semanas	8 Semanas	16 Semanas
Grupo I	3 a	2 ab	2 ab	2,5 a
Grupo II	2 a	1 ab	1,5 ab	2 ab
Grupo III	3 a	1 c	1 bc	2 ab
Grupo IV	2,5 a	1 bc	1 ab	2 ab

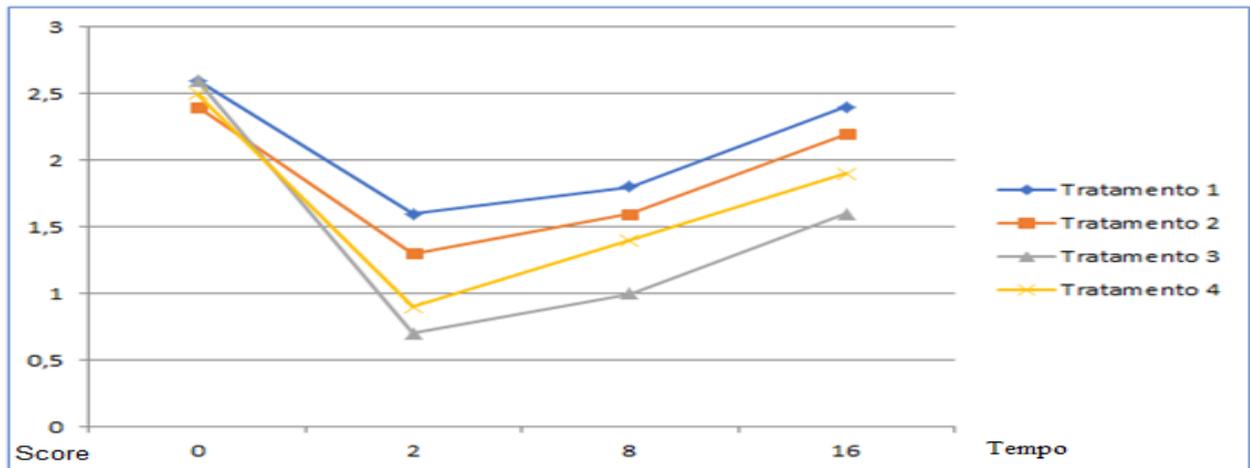
*Letras iguais não diferem estatisticamente entre si

Ao analisar cada tratamento individualmente ao longo do tempo, nos grupos I e II não houve diferenças estatisticamente significantes nas semanas estudadas. Já para os grupos III e IV pode ser observado diminuição significativa das ríntides em duas semanas, sendo que para o grupo IV já em 8 semanas há semelhança estatística com baseline, enquanto que o grupo III mantém a superioridade estatística em 8 semanas, retornando a semelhança com baseline apenas em 16 semanas.

=Ao examinar todos os grupos em cada tempo, pode-se observar que os tratamentos empregados nos grupos I e II não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si, em nenhum dos tempos avaliados. Da mesma forma para as doses aumentadas também não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos nos tempos avaliados.

Comparando todos os grupos entre si, o grupo III apresentou diferença estatisticamente significativa entre os demais grupos apenas no tempo de 2 semanas. Após a aplicação da toxina botulínica houve um decréscimo de sua efetividade com o passar do tempo retornando ao estado inicial após 16 semanas.

Figure I. Média dos valores em máxima contração pela escala Facial Wrinkle Scale (FWS) em função do tempo e do grupo testado.



Os resultados do grupo IV demonstram que 27U distribuídas em 5 pontos não são mais eficientes e duradouras que 21U aplicadas em 3 pontos.

4 DISCUSSÃO

O aumento do número de pontos de aplicação não apresentou melhores resultados quando comparados a um ponto de aplicação em cada músculo da região glabellar. Os resultados encontrados nesse estudo sugerem que nas doses empregadas (15 - 27U), apenas um ponto de aplicação por músculo é suficiente.

Isso pode ser justificado em função do halo de dispersão da toxina, caracterizado pela capacidade do fármaco em se espalhar após sua aplicação, tendo como fatores dependentes a força de aplicação podendo variar a cada operador, a composição da toxina e a concentração de toxina ou forma de diluição, podendo dispersar entre 1 a 3 cm de diâmetro, com o mesmo efeito. (KLEIN, 2005);(CHEN; LONG, 2019); (RAMIREZ-CASTANEDA *et al.*, 2013); (STONE *et al.*, 2011).

Os dados encontrados propõem que clinicamente todas as dosagens testadas apresentaram melhorias significativas para o tratamento das rítmicas glabellares, corroborando com a literatura científica especializada que evidencia o benefício da toxina botulínica para a melhoria estética dessa

área (CARRUTHERS; CARRUTHERS, 2006);(CARRUTHERS; CARRUTHERS; SAID, 2005);(KANE, 2003);(KLEIN, 2005).

A durabilidade máxima da toxina botulínica foi de 16 semanas, independentemente da dose aplicada, em consonância com o trabalho de CARRUTHERS; CARRUTHERS; SAID, 2005, o qual discorre que o retorno da atividade muscular ocorre em cerca de 3 meses para a maioria dos casos.

Uma possível explicação para esse dado, refere-se ao mecanismo de ação da toxina. Uma vez injetada no músculo a toxina atua clivando as proteínas SNARE (proteína de ligação a fator solúvel a n-etilmaleimida) do tipo SNAP-25, proteínas essas responsáveis pela mediação da exocitose das vesículas sinápticas com o neurotransmissor acetilcolina. Dessa maneira, o bloqueio da liberação da acetilcolina na fenda sináptica impede a contração muscular (WHEELER, 2013); (DRESSLER, 2012). A recuperação da atividade muscular ocorre com a formação de novas terminações e conexões nervosas, bem como a geração de novas proteínas transmembranas SNARE, as quais se estabelecem nesse período (MARQUES, 2014).

Conforme recomendações de consensos globais Sundaram *et al.*, 2016, o tratamento da região glabellar apresenta variações entre 3 a 7 pontos de aplicação, com doses totais variando entre 12 e 40U, corroborando com as diferentes técnicas avaliadas nesse estudo e resultados atingidos.

Uma meta análise de 4 estudos envolvendo 621 pacientes evidenciou que o emprego de 20U promoveu resultados estéticos satisfatórios no tratamento das ríntides glabellares após 4 meses, em mais da metade dos pacientes envolvidos (GLOGAU *et al.*, 2012).

Embora o objetivo original do emprego da toxina botulínica seja a paralisação da contração muscular, atualmente o que se propõe é, em realidade, o controle ou a modulação da atividade muscular por meio da redução de sua função. Isto é realizado por meio da redução da dose e aumento do intervalo de aplicação (SUNDARAM *et al.*, 2016). Este paradigma é suportado por um recente estudo retrospectivo com 194 pacientes tratados com toxina botulínica na região glabellar e acompanhados entre 5 a 9 anos (TRINDADE DE ALMEIDA *et al.*, 2015);(CARRUTHERS *et al.*, 2015).

Os resultados desse estudo deverão ser analisados com cautela para o julgamento clínico. Pois por mais que os tratamentos foram clinicamente eficazes, alguns pacientes podem ser beneficiados com dosagens superiores a essas testadas. Os resultados estão de acordo com (GUO *et al.*, 2015), onde mostra dosagens eficazes em cerca de 20U.

Consideramos oportuno reconhecer que características como gênero e etnia influenciam no padrão de distribuição e severidade das ríntides faciais (KANE, 2003);(KANE *et al.*, 2015). A chave

para o sucesso do tratamento é sempre uma análise individualizada do paciente de acordo com suas necessidades.

5 CONCLUSÃO

Os resultados desse estudo sugerem que nas dosagens estudadas, um ponto de aplicação no músculo próceros com 7U e um ponto de aplicação em cada músculo corrugador com 7U totalizando 21U apresentou melhores resultados e maior grau de satisfação dos pacientes após um período de 14 dias.

Além disso, o presente trabalho recomenda a realização de mais pesquisas clínicas testando outras formas de aplicação e dosagens de toxina botulínica assim auxiliando na elaboração de um protocolo para região.

REFERÊNCIAS

- ASCHER, B. et al. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and safety of 3 doses of botulinum toxin A in the treatment of glabellar lines. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 51, n. 2, p. 223–233, 2004.
- CARRUTHERS, J. A. et al. A multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of the efficacy and safety of botulinum toxin type A in the treatment of glabellar lines. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 46, n. 6, p. 840–849, 2002.
- CARRUTHERS, A.; CARRUTHERS, J.; SAID, S. Dose-ranging study of botulinum toxin type A in the treatment of glabellar rhytids in females. *Dermatologic Surgery*, v. 31, n. 4, p. 414–422, 2005.
- CARRUTHERS, A.; CARRUTHERS, J. Prospective, Double-Blind, Randomized, Parallel-Group, Dose-Ranging Study of Botulinum Toxin Type A in Men with Glabellar Rhytids. *Dermatologic Surgery*, v. 31, n. 10, p. 1297–1303, 2006.
- CHEN, S.; LONG, J. Adverse events of botulinum toxin A in facial injection: Mechanism, prevention and treatment. *Zhong nan da xue xue bao. Yi xue ban = Journal of Central South University. Medical sciences*, v. 44, n. 7, p. 837–844, 2019.
- CICCHETTI, D. V.; ALLISON, T. A New Procedure for Assessing Reliability of Scoring EEG Sleep Recordings. *American Journal of EEG Technology*, v. 11, n. 3, p. 101–110, 1971.
- COHEN J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ Psychol Meas.* v. 20, p. 37–46, 1960.
- DRESSLER, D. Clinical applications of botulinum toxin. *Current Opinion in Microbiology*, v. 15, p. 325-336, 2012.
- FLEISS JL. Measuring nominal scale agreement among many raters. *Psychol Bull.* v. 76, p.378–82, 1971.

GLOGAU, R. et al. OnabotulinumtoxinA: A meta-analysis of duration of effect in the treatment of glabellar lines. *Dermatologic Surgery*, v. 38, n. 11, p. 1794–1803, 2012.

GUO, Y. et al. Efficacy and safety of botulinum toxin type a in the treatment of glabellar lines: A meta-analysis of randomized, placebo-controlled, double-blind trials. *Plastic and Reconstructive Surgery*, v. 136, n. 3, p. 310-318, 2015.

HANKINS, C.L; STRIMLING, R; ROGERS, G.S. Botulinum A toxin for glabellar wrinkles. Dose and response. *Dermatol Surg.* v. 24, n. 11, p. 1181-1183, 1998.

HONECK, P. et al. Reproducibility of a four-point clinical severity score for glabellar frown lines. *British Journal of Dermatology*, v. 149, n. 2, p. 306–310, 2003.

KANE, M. A. C. Classification of crow's feet patterns among caucasian women: The key to individualizing treatment. *Plastic and Reconstructive Surgery*, v. 112, n. 5 SUPPL., p. 33–39, 2003.

KANE, M. A. C. et al. Evaluation of variable-dose treatment with a new U.S. botulinum toxin type A (Dysport) for correction of moderate to severe glabellar lines: Results from a phase III, randomized, Double-Blind, placebo-controlled study. *Plastic and Reconstructive Surgery*, v. 124, n. 5, p. 1619–1629, 2009.

KANE, M. A. C. et al. Heterogeneity of crow's feet line patterns in clinical trial subjects. *Dermatologic Surgery*, v. 41, n. 4, p. 447–456, 2015.

KLEIN, A. W. Complications with the use of botulinum toxin. *International Ophthalmology Clinics*, 2005.

LEMPERLE, G et al. A classification of facial wrinkles. *Plast Reconstr Surg.* v.108, n. 6, p. 1735-50, 2001.

LOWE, P.; PATNAIK, R.; LOWE, N. Comparison of two formulations of botulinum toxin type A for the treatment of glabellar lines: A double-blind, randomized study. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 55, n. 6, p. 975–980, 2006.

MARQUES, J. R. S. *A Toxina Botulínica: O seu uso clínico.* Porto. 2014.

MONHEIT, G. et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of botulinum toxin type A for the treatment of glabellar lines: Determination of optimal dose. *Dermatologic Surgery*, v. 33, n. SUPPL. 1, p. 51–59, 2007.

RAMIREZ-CASTANEDA, J. et al. Diffusion, spread, and migration of botulinum toxin. *Movement Disorders*, v. 28, n. 13, p. 1775–1783, 2013.

RAPPL, T et al. Three-Dimensional Evaluation of Static and Dynamic Effects of Botulinum Toxin A on Glabellar Frown Lines. *Aesthetic Plast Surg.* v.43, n.1, p. 206-212, 2019.

RUBIN, M. et al. An Analysis of Safety Data from Five Phase III Clinical Trials on the Use of Botulinum Neurotoxin Type A-ABO for the Treatment of Glabellar Lines. *Aesthetic Surgery Journal*, v. 29, n. 6S, p. 50-56, Nov-Dez 2009.

STONE, H. F. et al. Characterization of diffusion and duration of action of a new botulinum toxin type A formulation. *Toxicon*, v. 58, n. 2, p. 159–167, 2011. SUNDARAM, H. et al. Global Aesthetics Consensus: Botulinum Toxin Type A Evidence-Based Review, Emerging Concepts, and Consensus Recommendations for Aesthetic Use, Including Updates on Complications. *Plastic and Reconstructive Surgery*, v. 137, n. 3, p. 518e-529e, 2016.

WHEELER, A.; SMITH, H. S. Botulinum toxins: Mechanisms of action, antinociception and clinical applications. *Toxicology*, p. 124-146, 2013.