

Aus der Abteilung für Handchirurgie, Plastische Chirurgie und Ästhetische Chirurgie Klinik der  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Leitung: Univ.-Prof. Dr. med. Riccardo E. Giunta



**Quantifizierung der Einflüsse verschiedener Faktoren auf die  
Aktivität der mimischen  
Muskulatur des Gesichtes**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnmedizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Shirin Jane Maria Assemi-Kabir

aus

München

2024

---

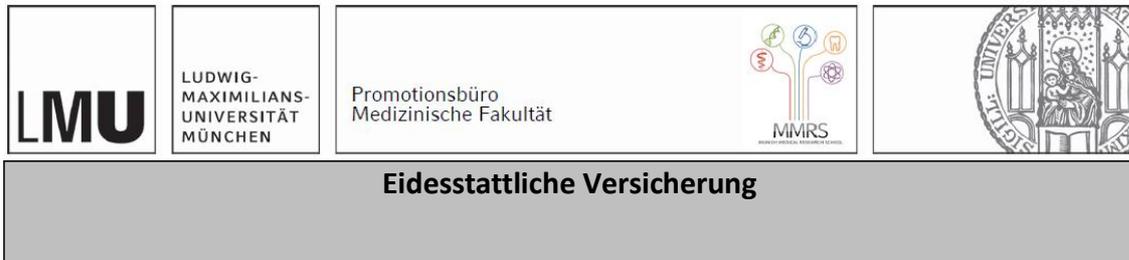
Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

Erstes Gutachten: Prof. Dr. Riccardo Giunta  
Zweites Gutachten: Priv. Doz. Dr. David Braig  
Drittes Gutachten: Prof. Dr. Dirk Nolte

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 11.12.2024

# Affidavit



Assemi-Kabir, Shirin

\_\_\_\_\_  
Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

**Quantifizierung der Einflüsse verschiedener Faktoren auf die Aktivität der mimischen Muskulatur des Gesichtes**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 18.12.2023

Ort, Datum

Shirin Assemi – Kabir

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand

# Inhaltsverzeichnis

|  |                  |
|--|------------------|
| <b><u>AFFIDAVIT.....</u></b>   | <b><u>2</u></b>  |
| <b><u>PUBLIKATIONSLISTE .....</u></b>  | <b><u>4</u></b>  |
| <b>1. UNDERSTANDING FACIAL MUSCLE AGING - A SURFACE ELECTROMYOGRAPHY STUDY .....</b>                         | <b>4</b>         |
| <b>2. ELECTROPHYSIOLOGIC FRONTALIS MUSCLE RESPONSE FOLLOWING NEUROMODULATOR INJECTIONS.....</b>              | <b>4</b>         |
| <b><u>BESTÄTIGUNG DER KO-AUTOREN .....</u></b>   | <b><u>5</u></b>  |
| <b><u>EINLEITUNG .....</u></b>   | <b><u>6</u></b>  |
| <b>1. ALTERUNGSPROZESS .....</b>   | <b>6</b>         |
| 1.1 STRUKTUREN DES GESICHTS UND IHRE VERÄNDERUNGEN .....   | 6                |
| 1.2 TOPOGRAPHISCHE ALTERUNGSPHÄNOMENE .....  | 9                |
| <b>2. BEHANDLUNGSMÖGLICHKEITEN .....</b>   | <b>10</b>        |
| 2.1 CHIRURGISCHE METHODEN.....   | 10               |
| 2.2 ALTERNATIVE MINIMAL-INVASIVE METHODEN .....  | 11               |
| <b><u>ORIGINALARBEIT .....</u></b>   | <b><u>18</u></b> |
| <b><u>ZUSAMMENFASSUNG .....</u></b>  | <b><u>24</u></b> |
| <b>PUBLIKATION 1: UNDERSTANDING FACIAL MUSCLE AGING - A SURFACE ELECTROMYOGRAPHY STUDY .....</b>             | <b>24</b>        |
| ENGLISH-ABSTRACT: .....  | 24               |
| DEUTSCH-ABSTRACT .....   | 25               |
| <b>PUBLIKATION 2: ELECTROPHYSIOLOGIC FRONTALIS MUSCLE RESPONSE FOLLOWING NEUROMODULATOR INJECTIONS .....</b> | <b>38</b>        |
| ENGLISH-ABSTRACT .....   | 38               |
| DEUTSCH-ABSTRACT .....   | 39               |
| <b><u>LITERATURVERZEICHNIS .....</u></b>   | <b><u>47</u></b> |
| <b><u>DANKSAGUNG .....</u></b>   | <b><u>51</u></b> |

## Publikationsliste

### **1. Understanding Facial Muscle Aging - A Surface Electromyography Study**

Sebastian Cotofana M.D. Ph.D.<sup>1</sup> **Shirin Assemi-Kabir**,<sup>2</sup> Samir Mardini M.D.<sup>3</sup>, Riccardo E. Giunta M.D. Ph.D.<sup>2</sup>, Robert H. Gotkin M.D. FACS<sup>4</sup>, Nicholas Moellhoff M.D.<sup>2</sup>, Luiz E.T. Avelar M.D.<sup>5</sup>, Arnaldo Mercado-Perez B.S.<sup>1</sup>, Nirusha Lachman Ph.D.<sup>1</sup>, Konstantin Frank M.D.<sup>2</sup>

Aesthet Surg J. 2021 Aug 13;41(9):NP1208-NP1217. doi: 10.1093/asj/sjab202. PMID: 33942051.

### **2. Electrophysiologic Frontalis Muscle Response Following Neuromodulator Injections**

**Shirin Assemi-Kabir** D.D.S,<sup>1\*</sup> Konstantin Frank M.D.,<sup>1\*</sup> Michael Alfertshofer,<sup>1</sup> Denis Ehrl M.D. Ph.D.,<sup>1</sup> Robert H. Gotkin M.D. FACS,<sup>2</sup> Nicholas Moellhoff M.D.,<sup>1</sup> Paul Z. Lorenc M.D.,<sup>3</sup> Tatjana Pavicic M.D.,<sup>4</sup> Claudia A. Hernandez M.D.,<sup>5</sup> Sebastian Cotofana M.D. Ph.D.<sup>6</sup>

Facial Plast Surg Clin North Am. 2022 May;30(2):225-231. doi: 10.1016/j.fsc.2022.01.010. PMID: 35501060.

## **Bestätigung der Ko–Autoren**

Die Doktorandin, Frau Shirin Assemi-Kabir, die in der ersten Publikation als Co - Autorin und in der zweiten Publikation als Erstautorin auftritt, hat das Thema der Dissertation sowie den Studienaufbau gemeinsam mit Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Riccardo Giunta und Dr. med. Dr.med. univ. Konstantin Frank entwickelt. Vorbereitungen, wie die Probandenakquise, die Datenerfassung anhand objektiver Messmethoden und die statistische Auswertung der Studiendaten, erfolgten eigenständig. Beide Publikationen wurden zunächst eigenständig durch die Doktorandin, Frau Shirin Assemi-Kabir, verfasst und anschließend durch Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Riccardo Giunta und Dr.med. Dr.med.univ. Konstantin Frank korrigiert und schließlich in eigenständiger Arbeit in ihre endgültigen Fassungen gebracht.

Weder die vorliegende kumulative Dissertation noch die angegebenen Publikationen sind Bestandteil einer anderen (laufenden oder abgeschlossenen) Dissertation der Doktorandin oder eines der Ko-Autoren.

# Einleitung

Rezente Studien haben aufgezeigt, dass Personen, die jünger und attraktiver auf ihre Umwelt wirken, beruflich erfolgreicher sind, leichter soziale Beziehungen knüpfen können und allgemein psychisch belastbarer sind. (1) Dementsprechend ist der Wunsch nach einem jüngeren und attraktiveren Aussehen der Hauptgrund für Patienten, sich invasiven sowie minimal-invasiven plastisch-ästhetischen Eingriffen zu unterziehen. Mit Hilfe innovativer Eye-Tracking Technik konnten detaillierte Gesichtsregionen bestimmt werden, welche einen maßgeblichen Einfluss auf die Einschätzung von Alter haben. (2) Durch die Erfassung der Augenbewegungen und der Blickmuster, können Emotionen quantifiziert und analysiert werden. Nguyen et al. zeigten im Jahre 2009 in einer Eye-Tracking Studie, dass die Augen-, Stirn-, und Nasenregionen zur Interpretation von Müdigkeit und Alter am häufigsten betrachtet werden. Dabei erfolgt die Wahrnehmung als gealtertes Gesicht hauptsächlich durch Betrachtung der Augenbrauen und der Glabella. (3) In dieser Arbeit werden die Auswirkungen des Alterungsprozesses auf bestimmte Regionen sowie der Einfluss einer Botulinumtoxin Behandlung auf diese Regionen untersucht. Hierbei kommen elektromyographische Messungen (EMG) und einer Kombination von EMG-Messungen mit 3D-Scans zum Einsatz.

## 1. Alterungsprozess

Der Alterungsprozess ist ein langsam fortschreitender, multifaktorieller und vor allem individueller Prozess.(4,5) Bereits seit 100 Jahren werden unterschiedliche Theorien zur Gesichtsalterung aufgestellt, vertreten und diskutiert. Ursprünglich wurden die typischen Veränderungen eines gealterten Gesichts auf die fortwährend abwärts ziehend wirkende Schwerkraft der Weichteile zurückgeführt.(6) Doch 1965 veröffentlichten Gonzalez-Ulloa und Flores den ersten Artikel, der die einzelnen Komponenten dieses Prozesses weiter konkretisierte.(7) Als elementares Konzept für ein tieferes Verständnis der Alterungserscheinungen des Gesichts beschrieben sie, dass die einzelnen Bestandteile (Knochen, Bänder, Fettgewebe und Muskeln) separat betrachtet werden müssen.(7) Sie kamen zu dem Schluss, dass ein Gesicht nicht als ein homogenes Objekt altert, sondern die einzelnen Kompartimente und Bestandteile individuell altern, und deshalb getrennt voneinander analysiert und behandelt werden sollten. (7)

### 1.1 Strukturen des Gesichts und ihre Veränderungen

#### 1.1.1 Knochen

Das knöcherne Grundgerüst des Schädels setzt sich aus zwei Hauptteilen zusammen. Der kraniale Bereich ist das Neurokranium, das dem Schutz des Gehirns dient. Das Viszerokranium wiederum ist der kaudale Teil und fungiert als strukturelles Fundament für

das darüber liegende Weichgewebe des Gesichtes. Beide Anteile setzen sich aus verschiedenen Einzelknochen zusammen. Bestimmte Bereiche des Mittelgesichts, des Schädeldachs, der Stirn und der Schläfen durchlaufen einen kontinuierlichen Alterungsprozess. Besonders im Mittelgesicht findet eine Knochenresorption statt und im Bereich der hinteren Maxilla eine Deposition von Knochen.(5,8) Der Verlust des strukturgebenden knöchernen Fundaments verursacht Faltenbildung, regionalen Volumenverlust und Absackungen des darüberliegenden Weichgewebes. Besonders durch die dadurch bedingte Reduktion der Mittelgesichtshöhe entsteht ein fundamentales Defizit in der Stabilisierung der tiefen und oberflächlichen Fettkompartimente. Folglich werden die altersbedingten Veränderungen im Gesicht sichtbar.(8–10)

### **1.1.2 Muskulatur**

Die Muskulatur im Gesicht dient der Mimik und damit dem individuellen Ausdruck von Emotionen. Sie ermöglicht soziale Kommunikation und Vermittlung von Stimmungen und trägt dadurch maßgeblich dazu bei, wie das Individuum seinem Gegenüber erscheint. Die mimische Muskulatur zeichnet sich dadurch aus, dass sie keine umgebende Muskelfaszie aufweist und entweder kutan oder in benachbarten Muskeln inseriert. Somit erklärt sich das Vorkommen von muskulären Komplexen in der periokulären und perioralen Region (M. orbicularis oculi und M. orbicularis oris). Durch die Insertion der meisten Mittelgesichtsmuskeln in der Haut im Bereich der Nasolabialfalte bilden sich natürliche, altersunabhängig sichtbare Grenzen der subkutanen Fettkompartimente.(8,11) In einer aktuellen Studie wird beschrieben, dass sich die Gesichtsmuskeln mit zunehmendem Alter verlängern, der Muskeltonus zunimmt, die Bewegungsamplitude dadurch abnimmt und sich der Muskeltonus im Ruhezustand sich in einem maximalen Kontraktionstonus befindet. Die klinische Auswirkung dieser Veränderungen sind als eine allgemeine Straffung der Gesichtsmuskeln mit einer begrenzten Dynamik des Gesichtsausdrucks zu beobachten. Diese anhaltende und dauerhafte Kontraktion, die zu einer deutlichen Verschiebung von Fett und damit zu einer Akzentuierung der Hautfalten führt, löst somit eine dauerhafte Faltenbildung der Haut mit der folgenden Umwandlung von dynamischen Falten in statische Falten aus.(11)

### **1.1.3 Fettgewebe**

Die oberflächliche subdermale Fettschicht, die in verschiedene bewegliche Fettkompartimente unterteilt ist, wird durch die Fascia Superficialis, von der tiefen subdermalen Fettschicht getrennt. Die Fascia Superficialis breitet sich über den kompletten Körper aus, jedoch wird sie je nach Körperregion unterschiedlich benannt: Im Schädelbereich Galea aponeurotica, in der Schläfenregion Fascia temporalis, in der Stirnregion M. frontalis und im Mittelgesicht superfizielles muskuloaponeurotisches System (SMAS).(9) Aktuelle Studien haben biomechanische Unterschiede der verschiedenen Fettkompartimente nachgewiesen. Die beweglichsten Fettkompartimente sind hierbei das superfizielle

nasolabiale Fettkompartiment und das superfizielle Jowls-Fettkompartiment. Durch den Umbau des knöchernen Fundaments des Gesichts während des Alterungsprozesses verlieren die Weichteile ihr formgebendes Gerüst und sinken somit entlang der Schwerkraft ab. Sie werden jedoch durch andere anatomische Strukturen, wie beispielsweise Muskeln, Ligamente und SMAS, aufgehalten. Dies ist auch als Pseudoprolaps bekannt. Dieser Vorgang verursacht zum Beispiel die optische Vertiefung des Sulcus nasolabialis und Sulcus labiomentalis sowie die Entstehung der „Jowls“. Die tiefen Fettkompartimente weisen eine geringere Mobilität auf, da die begrenzenden Muskeln und Bänder in der Tiefe einen stabilen Ansatz am Knochen haben. Jedoch unterliegen die tiefen Fettkompartimente, durch kontinuierliche Kontraktionen und Relaxationen der benachbarten Muskeln einer Volumenumverteilung oder sogar einer Atrophie. (12)

#### **1.1.4 Bänder**

Ligamentäre Strukturen des Gesichts verleihen den Weichgeweben Stabilität und Festigkeit. Bislang wurden keine altersbedingten Veränderungen der Ligamente beschrieben. Demzufolge ist eine veränderte Anatomie der Bänder am wahrscheinlichsten die Folge eines veränderten knöchernen Umbaus des Schädels, da die Ligamente an diesem ihren Ursprung finden.(9)

#### **1.1.5 Haut**

Als oberflächlichste Schicht des Gesichts weist die Haut verschiedene Funktionen auf: Unter anderem schützt sie die darunter liegenden Gewebeschichten, überträgt die Muskelaktivitäten der mimischen Muskulatur nach außen und dient der physiologischen Regulation diverser Stoffwechselprozesse. Altersbedingte Veränderungen der darunterliegenden Strukturen werden am äußeren Erscheinungsbild der Haut sichtbar. Strukturell teilt sich die Haut in drei Schichten auf.(9)

Die oberste Hautschicht bildet die Epidermis, die pigmentbildende Melanozyten beinhaltet. Die darunterliegende Dermis ist hauptverantwortlich für die Hautelastizität durch die Bildung des Proteins Elastin. Zusätzlich sorgt das vorhandene Kollagen für Volumen und Festigkeit sowie Glykosaminoglykane für die Feuchtigkeit. Die darunter liegende Subkutis besteht hauptsächlich aus lockerem Bindegewebe und Fettgewebe und dient als „Gleitlager“ für die Verschiebbarkeit der Haut.(13) Durch lebenslang einwirkende intrinsische sowie extrinsische Faktoren verringern sich diese Bestandteile in der Haut, wodurch Epidermis und Dermis gleichermaßen dünner und schwächer werden.(13) Die Folge davon ist eine geringere Widerstandsfähigkeit gegenüber Muskelkontraktionen, was eine Umwandlung von dynamischen Falten in statische Falten bewirkt.(14)

Die intrinsische Hautalterung ist bedingt durch natürliche, unveränderliche und genetische Faktoren. Der wesentliche Einfluss hängt von den Unterschieden in der Pigmentierung ab. Weitere relevante intrinsische Faktoren sind anatomische Hautvariationen an

unterschiedlichen Körperarealen und hormonelle Veränderungen. Extrinsische Faktoren sind im gewissem Maße regulierbar, vor allem die Belastung durch UV-Strahlung und Nikotin sowie ein ungesunder Lebensstil. (15)

## 1.2 Topographische Alterungserscheinungen

Das Gesicht kann in drei gleich große Drittel unterteilt werden: Das obere Gesichtsdrittel erstreckt sich vom Haaransatz bis zu den Brauen und der Glabella und umfasst dabei die Stirn sowie die Temporalregion. Ab der Glabella bis zum Subnasale erstreckt sich das mittlere Gesichtsdrittel und umfasst das Mittelgesicht, die Periorbitalregion und die Nase. Das untere Gesichtsdrittel definiert sich vom Subnasale bis zur mentalen Region, es beinhaltet das Kinn und den Kiefer. (16)

Die Verlängerung des oberen Gesichtsdrittels ist eine paradigmatische Altersveränderung, die durch die Verschiebung des Haaransatzes nach kranial sowie die Absenkung der Weichteile im Stirn- und Augenbrauenbereich entsteht. Somit verlängert sich der Abstand zwischen dem Haaransatz und Glabella. Zu den charakteristischen Veränderungen des alternden oberen Gesichtsdrittels gehören weiterhin die Augenbrauentptosis, laterale Augenbrauenhöcker sowie vertikale und horizontale Stirn- und Glabellafalten.(16) Die horizontalen Stirnfalten werden durch den ständigen Zug des M. frontalis verstärkt. Die Faltenbildung der Glabella findet ihren Ursprung in der dauerhaften Aktivität des M. procerus und des M. corrugator supercillius. Die Ptosis der Augenbrauen ergibt sich aus der reduzierten Aktivität des M. frontalis sowie dem erhöhten Tonus des M. orbicularis oculi, dem Nachlassen der Hautelastizität und aus der knöchernen Rezession des oberen Augenhöhlenrands.(17)

Das mittlere Gesichtsdrittel zeigt altersbedingte Veränderungen in der Periokularregion sowie im Nasen - und Wangenbereich. Die Verlängerung der Nase sowie das Absenken der Nasenspitze werden durch die Abschwächung von Stützstrukturen herbeigeführt.(18) Der Zustand des periokulären Bereichs hängt einerseits stark vom vorhandenen Fettvolumen ab, andererseits von der ossären Veränderung. Die knöcherne Rezession bewirkt eine substanzielle Veränderung in der Region des Margo orbitalis, wodurch der Aditus orbitalis an Fläche zunimmt und demzufolge das Auge kleiner wirkt. Periokuläre prädominante Falten sind die sogenannten Krähenfüße. Diese Falten werden auch als Lachfältchen bezeichnet und erstrecken sich fächerförmig bis zur Augenbraue und Wange. Sie entstehen beim Lächeln mittels Kontraktion des Mm. orbicularis oculi. Aufgrund des Fettverlustes und der Abschwächung der darüber liegenden Dermis werde sie mit der Zeit immer stärker sich ausgeprägt (17)

Eine zunehmende Akzentuierung der Nasolabialfalte ist mit zunehmendem Alter zu erkennen. Zum einen verliert das Nasolabiale Fettkompartiment seine Unterstützung, da sich die Maxilla und die Mandibula zurückbilden, und/oder das tiefe mediale Wangen Fettkompartiment atrophiert.(19) Zum anderen kann sich das Absinken durch den Verlust der Unterstützung der abgeschwächten malaren und orbitalen Bänder und durch einen generellen Volumenverlust des Mittelgesichtes verstärken. Dies deutet auf eine sekundäre

Entstehung der Nasolabialfalte aufgrund der Hypertrophie der superfiziellen Wangenfettpolster hin. (20)

Im unteren Gesichtsdrittel sind die „Bar Codes lines“, die Marionettenfalten und die Entstehung der „Jowls“ typische Anzeichen des Alterns. Der M. orbicularis oris ist einer starken altersbedingten Veränderung ausgesetzt. In der Jugend besitzt der Muskel klar definierte Bündel und Faszikel, umgeben von einer dünnen Bindegewebsschicht. Im Alter verdickt sich das Bindegewebe und der Muskel verliert an Masse und wird schwächer.(21) Durch die Verformung des Muskels und der knöchernen Umwandlung des Ober – und Unterkiefers nimmt die Stütze unterhalb der Lippen ab. Die Verminderung der darunterliegenden Stützstrukturen führt zu einer Erschlaffung der Haut, was wiederum die Bildung von feinen Bar Code ähnlichen Mundfalten begünstigt, die sich vom Lippenrand senkrecht zur Kontraktionsrichtung des M. obicluars oris bilden. (17) Die sogenannten Marionettenfalten entstehen durch das Absinken des Mundwinkels, bedingt durch den Volumenverlust der Kinnregion (22). Mit dem knöchernen Volumenverlust des Unterkiefers und der Abschwächung der umgebenden Bändern, sinkt das superfizielle Wangenfettkompartiment nach kaudal ab, und es entstehen „Jowls“.(16,17,23)

## **2. Behandlungsmöglichkeiten**

### **2.1 Chirurgische Methoden**

#### **2.1.1 Facelift**

Bereits in den frühen 1900er Jahren wurden die ersten Facelift-Techniken beschrieben. Eugene von Hollander gab an, dass er 1932 sein ursprüngliches Verfahren bereits 1901 angewandt hat, wobei es sich dabei um elliptische Hautexzisionen der natürlichen Hautfalten am Haaransatz handelte. 1931 veröffentlichte Prof. Lexer seine abgewandelten S-förmigen Exzisionen im Schläfenbereich. (24) Bis in die 1970er Jahren wurde die klassische subkutane Dissektion abgeändert und verfeinert. Durch neue Erkenntnisse zur Gesichtsanatomie, entstanden innovative Techniken, worauf hin 1974 Skoog erstmalig das Facelift beschrieb, das die tieferen Faszien-schichten miteinschloss. Er führte eine Dissektion der oberflächlichen Gesichtsfaszie durch, die er als „bukale Faszie“ bezeichnete, die das Platysma des Halses miteinbezieht.(25,26) Seine Facelift -Technik bestand darin, einen durchgehenden Faszienlappen, der nach der Dissektion in superoposterior Richtung zu positionieren und an der Mastoid - und Parotid – Masseter- Faszie zu verankern. (25) Obwohl seine Dissektion zu einem robusten und gut durchbluteten Verbundlappen führte und folglich mit einem länger anhaltenden Effekt zu rechnen war, erlangte seine Technik nie hohes Ansehen, da hinsichtlich der tieferen Dissektionsebene ein höheres Risiko der Gesichtsnerventraumatisierung zu befürchten war. (27) Bereits zwei Jahre darauf entdeckten Mitz und Peyronie das oberflächliche SMAS, welches mit dem Platysma des Halses und der temporoparietalen Faszie der Kopfhaut zusammenhängt und die mimetische Gesichtsmuskulatur umhüllt.(24)

Moderne Facelift-Techniken konzentrieren sich auf die Neupositionierung der SMAS, um ein verbessertes Ergebnis zu erzielen. Durch die Neupositionierung der SMAS wird die Spannung auf das tiefe liegende Gewebe maximiert und gleichzeitig die Spannung auf die Haut minimiert, was zu einer verbesserten Optik der Schnittlinie und zu einer längeren Haltbarkeit des Ergebnisses führt.(24,28)

In den letzten Jahrzehnten hat sich das Verständnis der Gesichtsanatomie kontinuierlich verbessert, was zu einer tieferen Kenntnis sowohl der Primär- als auch der Stützstrukturen des Gesichts geführt hat. Furnas charakterisierte im Jahr 1989 die Bänder des Mittelgesichts, was zu einem neuen Verständnis des Stützsystems der Gesichteweichteile und ihrer Rolle beim Alterungsprozess, führte. Diese Fortschritte brachten zwei parallelen Entwicklungen mit sich: Einerseits konzentrierten sich von nun an die Facelift-Techniken zunehmend auf tiefere Dissektionen und invasivere Eingriffe, um bessere Ergebnisse zu erzielen. Andererseits trugen Fortschritte im anatomischen Verständnis und gesellschaftliche Forderungen nach einer kürzeren Erholungszeit zur Entwicklung minimalinvasiver Techniken bei.(24–26)

## **2.2 Alternative minimal-invasive Methoden**

### **2.2.1 Neurotoxin**

Die Injektion des neuromodulatorischen Toxins-Botulinumtoxin-A (BTX-A) wird weltweit als der am häufigsten angewendete kosmetische Eingriff gelistet, und hält sich seit 1999 auf dem ersten Platz der non-invasiven ästhetischen Behandlungen in den USA. (29,30) Dort wurde die Anzahl von injiziertem Botulinumtoxinen innerhalb der vergangenen drei Jahre um 17,8% gesteigert. (30)

Das klinische Bild des Botulismus wurde bereits 1817 von dem Arzt und medizinischen Schriftsteller Kerner ausführlich beschrieben. Die möglichen medizinischen Therapieansätze zur Behandlung hyperaktiver Muskeln wurden schon damals von ihm gründlich erläutert. (31) Doch erst 1897 gelang es dem belgischen Prof. van Ermengen das Bakterium zu identifizieren. Er nannte es vorerst „Bacillus Botulinus“, später wurde es jedoch in „Clostridium botulinum“ umbenannt. Da sich das Bakterium innerhalb des befallenen Organismus nicht weiter vermehrte, wurde der physiopathologische Ablauf als Intoxikation und nicht als Infizierung beschrieben. Das produzierte Toxin wurde als Botulinumtoxin (BTX) anerkannt.(32) Während der experimentellen Forschung zur Gewinnung eines BTX Antiserums entdeckte Dr. Leuchs 1910 einen weiteren Serotyp.(33) Basierend auf dieser Entdeckung und den Ergebnisse von Prof. van Ermengen, gelang es Prof. Burken 1919, eine Klassifikation der verschiedenen BTX-Stränge aufzustellen.(34) Während der 20er Jahre wurde die Forschung an BTX weiter vorangetrieben und resultierte in einer Reindarstellung des BTX-A durch Dr. Sommer. Zusätzlich wurde das Fundament für die Herstellung, Wirkung und serologische Differenzierung erstellt. (35) Gegenwärtig sind sieben unterschiedliche BTX-Neurotoxine Serotypen bekannt, alias Botulinumtoxin A-G.(36) In den folgenden 20 Jahren wurde die erste reine kristalline Form des BTX-A in einem Militärlabor (Fort Detrick) in Maryland isoliert. Nach

der Schließung des Labors übernahm Dr. Schantz das geprüfte Verfahren und entwickelte zum ersten Mal eine Einheit an BTX-A zur Anwendung am Menschen.(37) Im Rahmen einer weiteren Studie bewies Dr. Brooks, dass die durch BTX verursachte Muskellähmung auf die Blockade der Freilassung von Acetylcholin an der neuromuskulären Endplatte zurückzuführen ist. (38) Seit den 60er Jahren forschte Dr. Scott an der Smith-Kettlewell Eye Research Foundation an der klinischen Applizierung von BTX-A zur Behandlung von Strabismus.(39) Nach erfolgreichen Ergebnissen in Tierversuchen 1973, begannen 1978 klinische Tests an freiwilligen menschlichen Probanden, die 1980 in der ersten Publikation zur effektiven Behandlung des Strabismus resultierten. (40)

BTX ist ein zweikettiges Polypeptid, das aus einer leichten (L-Kette ca. 50kD) und einer schweren (H-Kette ca. 100kD) Kette besteht. (35) Diese Ketten sind über eine einfache Disulfidbrücke verbunden und bilden damit die neurotoxische Einheit. Zusätzlich binden weitere nicht-toxische Proteine am Stamm-Protein an.(41) Die Depolarisierung der präsynaptischen Endigung durch das Aktionspotential führt zur Steigerung des Calciumgehaltes im neuronalen Endköpfchen und initiiert den Transport der synaptischen Vesikel in Richtung der präsynaptischen Membran. Die Fusion der Vesikel mit dem Transportprotein SNARE (soluble N-ethyl-maleimide-sensitive factor attachment protein receptor) leitet die Acetylcholin-Freilassung in den synaptischen Spalt ein, wodurch der Reiz auf das Zielorgan übertragen wird. Nach der Injektion von BTX befindet sich das Neurotoxin peripher im synaptischen Spalt. Zuerst bindet die H-Kette des neurotoxischen Komplexes an einem spezifischen Glykoprotein der äußeren Zellmembran. Daraufgehend gelangt der neurotoxische Bestandteil durch Endozytose in die Zelle, und ein neues Vesikel wird geformt. Gleichzeitig findet eine Reduzierung der Disulfidbrücke statt, wodurch die L-Kette in das Zytoplasma abgespalten wird. Diese wirkt proteolytisch und spaltet funktionsnotwendige Proteine des SNARE-Komplexes ab, wodurch sie die Exozytose von Acetylcholin in den synaptischen Spalt verhindert. Die verschiedenen Serotypen spalten unterschiedliche Proteine des SNARE-Komplexes ab. Die folgende chemische Denervierung führt zu einer Atonie des glatten Muskelgewebes, zur Hypohidrose bis zur Anhidrose und zur Atrophie des quergestreiften Muskelgewebes. Die Reversibilität von BTX wird durch die Synthese neuer SNARE-Proteine erklärt, die nicht der proteolytischen Wirkung des Toxins ausgesetzt sind.(35,36)

Das im Volksmund Botox genannte BTX, wird heutzutage in verschiedenen medizinischen Bereichen als Therapiemittel angewendet. Vorerst wurde es 1989 von der Food and Drug Administration (FDA) in den USA für die Behandlung von Spastiken, Strabismus und Blepharospasmus zugelassen. Mittlerweile wird es jedoch - zulassungsüberschreitend - für diverse Pathologien mit muskulären Hyperaktivitäten verwendet.(42) Nach jahrelanger Behandlung von Blepharospasmus mit BTX, entdeckte die Ophthalmologin Dr. Jean Carruthers zufälligerweise den positiven Nebeneffekt, dass dynamische Stirnfalten nach und nach verschwanden. Zusammen mit ihrem Ehemann, dem Dermatologen Dr. Alastair Carruthers, veröffentlichte sie den ersten Artikel über die mögliche kosmetische Anwendung von BTX. Mit diesem Fundament und etlichen darauffolgenden, veröffentlichten Studien etablierte sich BTX ab 1990 als non-invasive Behandlungsmethode in der ästhetischen Dermatologie und plastischen Chirurgie. Zusätzlich wird es nicht nur für die Behandlung von diversen

Gesichtsfalten verwendet, sondern ermöglicht auch eine Schmerzmilderung in der Therapie von Migräne sowie eine Steigerung der Lebensqualität bei pathologischer Hyperhidrosis der Axillea, Planta Pedis und Palma Manus.(43)

Die am häufigsten BTX-A adressierten Gesichtsmuskelgruppen zur Faltenbekämpfung sind der M. procerus und M. frontalis, da eine glatte Stirn oft mit Jugendlichkeit und Sorglosigkeit assoziiert wird. (44) Der M. frontalis agiert als alleiniger Elevator der Stirn sowie der Augenbraue, so dass Nebenwirkungen wie Brauen-Ptose oder auch Lid-Ptose entstehen können. Weitere mögliche ästhetische Nebenwirkungen eine BTX-Injektion in der Stirn sind Asymmetrien, Porenverkleinerungen und spezifische Faltenbildungen. Diese Nebenwirkungen sind jedoch individuell therapierbar und treten selten auf.(45) Nicht nur wegen ihrer geringen Nebenwirkungen, sondern auch Dank ihrer Reversibilität weist die BTX-Therapie eine hohe Patientenzufriedenheit auf.

### **2.2.2. Dermaler Filler**

Die ersten Fetttransplantationen zur Volumenaugmentation wurden schon vor 100 Jahren beschrieben. (46) Im Verlauf der folgenden Jahrzehnte wurden verstärkt Paraffine und Silikone verwendet, die aber wegen ihrer extremen Nebenwirkungen, wie embolische Ereignisse, die nicht selten zum Tod des Patienten führten, von der FDA wieder verboten wurden.(47) Es folgten Produkte aus tierischem bovinem Kollagen, da Kollagen ein essentieller Bestandteil der Haut ist und somit weniger Nebenwirkungen zu erwarten waren. Deshalb sollten die Patienten vor der Behandlung obligat auf mögliche Unverträglichkeiten getestet werden.

Die Injektion von dermalen Fillern ist nach der Anwendung von Neurotoxinen die zweithäufigste angewendete minimal-invasive Technik in den USA. (48) Der auszugleichende Volumenverlust ist der Schlüsselfaktor bei ästhetischen Behandlungen. Die Augmentationstechniken spielen eine große Rolle in weiterreichenden Bereichen, von der Dermatologie bis zur plastischen Chirurgie. Die unterschiedlichen Filler haben vergleichbare therapeutische Ziele, unterscheiden sich jedoch stark in ihren chemisch-physikalischen und biologischen Eigenschaften. Moderne dermale Filler haben die Eigenschaft, augenfällige unerwünschte altersbedingte Veränderungen wie Falten und Hautvertiefungen auszugleichen. Dadurch wird eine verlorengegangene Symmetrie der Gesichtshälften wieder hergestellt oder neu modelliert.(46) Lippenkonturen und das Volumen der Wangenknochen werden akzentuiert, Aknenarben und andere Narben werden ausgeglichen. Die Anwendung verschiedener Füllmaterialien zur Augmentationsgründen gewinnt daher immer mehr an Popularität. Die zunehmende Nachfrage resultiert in einem breitengefächerten Angebot verschiedener Hersteller. Unterschieden werden die Filler anhand ihrer Wirkungsdauer in permanent, semipermanent und temporär sowie ihrer biologischen Abbaubarkeit in resorbierbare und nicht-resorbierbare.(49)

### 2.2.2.1 Absorbierbare Filler

Absorbierbare Filler werden teilweise bis vollständig vom Körper abgebaut und entwickeln eine temporäre bis semipermanente Wirkungsdauer. Hyaluronsäure (HA) hat eine temporäre Wirkungsdauer und wird vollständig absorbiert. Bei Poly-L-Lactic Acid (PLLA), Calciumhydroxylapatit (CaHA) und Eigenfettinjektionen spricht man von semipermanenten Filler.(50)

#### a) Hyaluronsäure (HA)

Die Hyaluronsäure ist ein natürliches Polysaccharid, das sich aus N- acetylglucosamin und Glucuronsäure zusammensetzt. HA wird durch die Fermentierung von equinem Streptococcus gewonnen. Sie ist ein natürlicher Bestandteil der Dermis, der im Alterungsprozess progressiv abgebaut wird.(51) In die Dermis injiziert, erhöht HA den Feuchtigkeitsgehalt der Haut und füllt somit die Lücken zwischen den Falten. Enzymatische Verdauung und die Bewegung der mimischen Muskulatur, beeinflusst durch Lebensstilgewohnheiten, wie Nikotinabusus, Alkoholkonsum und Exposition gegenüber UV-Strahlung bestimmen, wie lange der Behandlungseffekt andauert. Die Wirkung hält je nach Komplexität des verwendeten Moleküls zwischen 6 und 18 Monaten an. Mögliche unerwünschte Nebenwirkungen können durch die Injektion von Hyaluronidase, einem natürlichen Enzym, das appliziertes Hyaluron an der Injektionsstelle neutralisiert, kurzfristig und sehr anwenderfreundlich kontrolliert werden. (52) Zugelassen wurde HA für die Behandlung der tiefen Nasolabialfalten sowie für die Augmentation der Lippen. Es wird jedoch weitläufig im Off-Label-Use für die Behandlung von Marionettenfalten, Stirnfalten und der Tränenrinne verwendet.(50)

#### b) Poly-L-Lactic Acid

Seit 2004 sind Füllstoffe auf Basis von Poly-L-Lactic Acid von der FDA zugelassen, um Lipoatrophien im Gesicht im Zusammenhang mit einer HIV- Infektion zu behandeln. Außerdem werden sie seither im Off-Label-Use für die Weichgewebsaugmentation verwendet. Dieser thermoplastische aliphatische Polyester ist ein biologisch abbaubares, biokompatibles, nicht-immunogenes, im Labor hergestelltes Molekül, das die endogene Kollagensynthese stimulieren kann und einen dauerhaften Fülleffekt von mindestens 10 Monaten gewährleistet. Es wird zum Ausgleich besonders tiefer und breiter Falten in der Nasolabialregion, zur Neudefinition des Volumens der Gesichtsränder, der Wangen, der Hände und am Hals angewendet.(53)

#### c) Calciumhydroxylapatit

Calciumhydroxylapatit CaHA ist eine synthetische, anorganische Verbindung mit einer chemischen Struktur, wie sie ähnlich in Zähnen und Knochen vorkommt. Das Gel in den vorgefertigten Spritzen sorgt für einen Sofortfülleffekt, die CaHA-Mikropartikel erzeugen einen Langzeitfülleffekt für 1 bis 2 Jahre. Bereits innerhalb von wenigen Wochen wird das Gel komplett resorbiert und durch Kollagen ersetzt. Die Mikrosphären dienen als Gerüst für das Einwachsen von Fibroblasten und Kollagen und werden als Kalzium und Phosphat abgebaut. Im Off-Label-Use angewendet dient CaHA zur Rekonstruktion von Lipoatrophien im Gesicht, der Korrektur von moderaten bis gravierenden Gesichtsfalten und der Aufpolsterung des Handrückens. Die Gel Eigenschaften des Gels verhindern eine Überkorrektur. Es sollte nicht periokulär oder in die Lippen injiziert werden, da Granulome als unerwünschter Nebeneffekt entstehen können.

Bei der Verwendung von resorbierbaren Fillern kann der behandelte Bereich aufgrund der Injektion innerhalb weniger Tage reversible Irritationen wie Erytheme, Ekchymosen, Ödeme und Rötungen aufweisen, vor allem Kribbeln, Jucken, Brennen und Schmerzen an der Injektionsstelle treten häufiger in stark vaskularisierten Bereichen und bei Patienten auf, die mit Antikoagulantien oder blutverflüssigenden Substanzen behandelt werden. Deshalb ist eine gründliche Anamnese vor Therapiebeginn obligat. Allergene Reaktionen sind dagegen sehr selten. Dokumentierte Infektionen sind im Zusammenhang mit mangelnder Hygiene oder fehlerhaften Injektionstechniken gelistet. Die Anwendungen von dermalen Filler sind kontraindiziert bei bestehenden systemischen Autoimmunerkrankungen, Diabetes mellitus, dermatologischen Erkrankungen sowie in der Schwangerschaft und Stillzeit. (12)

#### d) Lipofilling

Eine Sonderstellung im Bereich resorbierbarer Filler nimmt das Lipofilling ein. Lipofilling ist eine natürliche Methode zum Auffüllen eines bestimmten Körperareals mit autologen Fettzellen. Die zum Volumenaufbau benötigten Fettzellen werden mit einer Spritze aus Bauch, Oberschenkel oder Knie entnommen, aufbereitet und mit Nadeln oder Kanülen an die gewünschte Stelle reinjiziert. (54) Während Filler basierend auf HA und PLLA vollständig resorbierbar sind, wird beim Lipofilling nur ein bestimmter Prozentsatz des Füllstoffes abgebaut. Mehr als die Hälfte verbleibt permanent an der Injektionsstelle. Im Vergleich zu den nicht-resorbierbaren Fillern ist dieses besondere Verfahren im Allgemeinen sicher, da Fett ein Eigenprodukt ist und nur zu einem minimalen Prozentsatz zu Fremdkörperreaktionen (Fettgewbsgranulome insbesondere in den Augen und der Wangenpartie) führt.(13) Ein vergleichsweise erhöhter Zeitaufwand aufgrund der zusätzlichen Prozedur der Fettentnahme, eine post-operative Betreuung sowie mögliche Nebenwirkungen/Komplikationen an der Entnahmestelle sind zu beachten.

### 2.2.2.2 Nicht-resorbierbare Filler

Nicht-resorbierbare Filler stimulieren die körpereigene Kollagenproduktion durch eine gezielte provozierte Fremdkörperreaktion in der Haut und sind folglich permanent. Als permanente Filler sind Polymethylmethacrylat (PMMA), Polyacrylamid (Aquamid) und Silikon verfügbar. (49)

#### a) Polymethylmethacrylat mit Bovin Kollagen

Üblicherweise gibt es den Filler in einer Kombination aus Bovin Kollagen versetzt mit Polymethylmethacrylat PMMA Mikrosphären. Das Kollagen dient hierzu nur als Transportmedium und wird innerhalb kürzester Zeit durch Kollagenase und Phagozytose abgebaut. (50) Parallel produzieren körpereigene Fibroblasten kollagene Fasern, welche die PMMA Mikrosphären ummanteln. Aufgrund der bekannten Allergenität von tierischem Kollagen muss vor der Anwendung ein entsprechender Test zur Abklärung durchgeführt werden. PMMA ist zur Unterspritzung von Nasolabialfalten und der Behandlung von aknebedingten tiefen Narben zugelassen.(46)

#### b) Polyacrylamid

Der Füllstoff setzt sich aus Polyacrylamid, das durch die Polymerisation von Acrylamid und N,N=Methylenbisacrylamid Monomeren gewonnen wird, und einem aus Wasser bestehenden Gel zusammen. Injiziert bilden diese Komponenten eine fibrozelluläre Kapsel, ohne Fremdkörperreaktion. Innerhalb der folgenden 6 bis 9 Monaten wächst die fibrozelluläre Kapsel und wird von Fibroblasten und Makrophagen ummantelt. Durch die starke Verbindung der Wassermoleküle und der Polyacrylamid-Polymere wird das Wasser nicht abgebaut und bleibt permanent im Körper vorhanden, wodurch der Filler bis zu 9 Monaten im Körper tastbar ist. Indiziert ist dieser Füllstoff zur Lippenaugmentation und zur Unterspritzung von diverser Gesichtsfalten wie der Nasolabialfalte, der Perioralfalten und der Glabellarfurchen, sowie zur Modellierung der Wangen-, Kinn- und Nasen- Kontur. Wie bei allen Fillern können Hämatoeme, Ödeme und Hautirritationen, aber auch Granulome, als Nebenwirkung vorkommen.(55)

#### c) Silikon

Es gibt zwei medizinische zugelassene Formen des Silikons, wobei beide aus langkettigen Polydimethylsiloxan-Ölen bestehen. Das injizierte Silikon wird in Mikrotröpfchen unter der Haut verteilt und leitet einen beabsichtigten reversiblen Entzündungsprozess ein. Binnen eines Monats sind die Tröpfchen von Fibroblasten und Kollagenfasern eingebaut.(55) Die endgültig resultierende Fibrose ist nach 14 Monaten erreicht und kann bedingt durch eine prolongierte Neokollagenese einen augmenativen Effekt über Jahre erzielen. Zugelassenes Silikon hat viele positive Eigenschaften, die einen optimalen Füller ausmachen: es ist nicht

kanzerogen sowie chemisch und temperaturunabhängig stabil. Ein prätherapeutisches Testen ist zudem nicht erforderlich. Zugelassen sind die Silikone in der Therapie zur Netzhautablösung. Im Off-Label-Use werden sie zur Lippenaugmentation meist verwendet. (46)

### **2.2.3 Fadenlifting**

Das Fadenlifting wird bereits seit den frühen 90er Jahren beschrieben. Bei diesem Prozedere werden feine Fäden, mit einem minimal-invasiven Vorgehen unter der Haut fixiert, um Hauterschläffungen entgegenzuwirken. Mit dieser Herangehensweise werden größere Schnitte und längere Heilungsphasen vermieden.(56) Zunächst wurden verschiedene nicht resorbierbare Materialien wie Gold, Nylon und Polypropylen verwendet. Es folgten Polypropylen-Fäden mit Widerhaken („Barbs)/Zähnen („cogs“). Diese Widerhaken ermöglichen eine bessere Verankerung im Gewebe und erzielen einen gesteigerten Lifting-Effekt. Zusätzlich provozieren sowohl der Faden auch als auch die Widerhaken eine erhöhte körpereigene Kollagenstimulation, wodurch ein verstärkter Hebeeffect resultiert. In der Literatur sind drei Hauptprototypen beschrieben: Die APTOS-Fäden (Anti-Pitosis), Isse Endo Progressive Facelift Fäden und die Contour/Silhouette-Fäden. Diese drei Fadentypen bestehen jeweils aus 2-0 Polypropylenfäden, unterscheiden sich aber anhand ihres Mechanismus und des Designs ihrer Widerstandsgeber.(57)

Die Original Aptos-Fäden benötigen dank ihrer bidirektionalen Widerhaken keine zusätzliche Verankerung im Gewebe. Die beiden anderen haben jedoch unidirektional angereihte Widerhaken, die eine additional Befestigung an fixen Strukturen wie der Temporalfaszie benötigen.(58)

Aktuell wird zwischen nicht-resorbierbaren und resorbierbaren Fäden unterschieden, wobei der Trend zu resorbierbaren Fäden mit Widerstandsgebern geht. Diese Fäden aus Polydioxanon (POD; Lead fine Lift™), Polycaprolacton (Happy Lift™) und Polymilchsäure (Silhouette Soft™) verursachen durch ihren Abbau eine erhöhte Bindegewebsstimulation und ermöglichen so einen länger anhaltenden Lifting-Effekt von 1,5 bis 2 Jahren. (59)

Das Fadenlifting wird im allgemeinen bei eher leichten bis moderaten Nasolabialfalten, Marionettenfalten sowie bei absinkenden Wangenweichteilen und zum Augenbrauenlifting empfohlen. Bei jedem der drei Verfahren kann es zu Komplikationen wie Hämatomen, Blutungen und Infektionen kommen. Die Nachteile bei nicht resorbierbaren Polypropylen-Fäden sind Fädenmigration, das Sichtbarwerden der Fäden und mögliche asymmetrische Ergebnisse. (57,59)

## Originalarbeit

Der Alterungsprozess ist zwar vorhersehbar, aber seine Progressivität ist individuell. Um dieser entgegenzuwirken oder sie gar zu stoppen, ist ein detailliertes Verständnis des zugrunde liegenden biologischen Ablaufes erforderlich. Im Laufe der Zeit verändert sich das knöcherne Fundament des Gesichtes. Vor allem im Mittelgesicht findet ein Abbau statt. Dieser Abbau bewirkt, dass die darüber liegenden Weichgewebe nach unten absinken. Die Fettkompartimente werden umverteilt, wodurch Akzentuierungen der Gesichtsfalten entstehen. Zusätzlich verliert die Haut bedingt durch extrinsische und intrinsische Faktoren ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber der Kontraktion der Muskulatur, so dass sich dynamische Falten in statische Falten umwandeln. Da der Alterungsprozess als ein dynamischer Ablauf in allen beteiligten Gewebeschichten des Gesichtes stattfindet, ist es von Bedeutung jede Schicht individuell zu analysieren und zu verstehen. Es gibt bereits einige Studien, welche die Veränderungen des Knochens, der Haut, der Fettkompartimente und der Bänder untersuchen. Im Gegensatz dazu ist das Phänomen der altersbedingten Veränderung der Muskelaktivität noch nicht ausreichend analysiert. Eine umfassende Analyse des Verhaltens der Gesichtsmuskulatur kann dazu beitragen, die Auswirkungen von Muskelkontraktionen auf die Bildung von Falten besser zu verstehen und gezieltere Behandlungen zu entwickeln. Um die Aktivität in bestimmten Gesichtsmuskeln zu reduzieren, wird BTX injiziert. Eine Untersuchung des Verhaltens der Gesichtsmuskulatur in Bezug auf die BTX-Behandlung kann helfen, die Effektivität und Sicherheit dieses Verfahrens besser zu verstehen. Klassischerweise werden die Effektivität und Wirksamkeit des BTX anhand von standardisierten photonumerischen Skalen bewertet. Neue, moderne Techniken ermöglichen eine weitaus präzisere Bewertung der Wirksamkeit des BTX.

Diese Arbeit soll aufzeigen, dass mittels EMG-Messungen detaillierte Informationen über die muskulären Veränderungen erhalten werden können. Erstmals findet in Studie 1 ein direkter Vergleich der mimischen Muskelaktivität in den Altersgruppen Jung (21-29 Jahre) und Alt (51 - 82 Jahre) statt.

Die zweite Studie ermittelt durch eine Kombination von EMG-Messung und Vektorenanalysen der Haut, die Short-Term- und Long-Term- Wirksamkeit von Neurotoxin-Anwendungen.

Der erste Teil dieser Arbeit setzt sich mit dem Phänomen des Alterungsprozesses auseinander. Dafür wurden an 32 freiwillig teilnehmenden Probanden insgesamt 1632 Messungen von 9 mimischen Muskelgruppen mit Hilfe eines sEMG (surface/Oberflächen EMG) untersucht. Die Probanden wurden in zwei Gruppen (Jung n= 16 mit 24.2 (2.2) Jahren und Alt n=16 mit 61.0 (8.6) Jahren) aufgeteilt, um den Einfluss des Alters auf die mimische Muskulatur zu messen. Die Teilnehmer wurden auf freiwilliger Basis rekrutiert und in die Studie aufgenommen, wenn sie vorher keine minimal-invasiven Eingriffe im Gesicht haben (Weichteilfüller oder Neuromodulator-Injektionen) oder chirurgischen Eingriffe im Gesicht haben durchführen

lassen, keine signifikanten Gesichtstraumata erlitten haben oder an Krankheiten leiden, die möglicherweise die Integrität des Gesichts gestört oder die normale Funktion der Gesichtsmuskeln beeinträchtigt haben könnten.

Für die Messungen wurden an der Oberfläche haftende, drahtlose Sensoren auf den Gesichtern der Teilnehmer/innen positioniert, um das Aktionspotenzial der MUAP (Motor Unit Action Potential) des jeweils darunter liegenden Muskels zu erfassen. Die interessanten Variablen waren der Mittelwert der drei durchgeführten Muskelkontraktionen, berechnet als Quadratwurzel aus der maximalen Muskelkontraktion (das Signal, in  $\mu\text{V}$ ) und der Quadratwurzel aus der jeweiligen Muskelaktivität in Ruhe (Die Baseline-Noise, in  $\mu\text{V}$ ). Das Signal-Noise-Ratio (SNR) wurde unter Verwendung der 20-Log-Funktion, des Verhältnisses zwischen dem Signal geteilt durch das Noise gemäß den Herstellerrichtlinien, berechnet.

Folgenden Muskelgruppen wurden aufgezeichnet:

1. M. frontalis (Stirnrunzeln - überraschter Gesichtsausdruck)
2. M. procerus (Stirnrunzeln der Glabella - verärgertes Gesichtsausdruck)
3. M. corrugator (Stirnrunzeln der Glabella - zorniger Gesichtsausdruck)
4. M. orbicularis oculi (kräftiges Schließen der Augen)
5. M. levator labii superioris alaeque nasi (Gesichtsausdruck des Ekels)
6. M. zygomaticus major (Lächeln - glücklicher Gesichtsausdruck)
7. M. mentalis (Anspitzen der Unterlippe - Gesichtsausdruck des Schmollens)
8. M. depressor anguli oris (Niederdrücken des Mundwinkels - trauriger Gesichtsausdruck)
9. Platysma (Kontraktion des Halses - erzwungene Entblößung der Platysmalbänder)

Um den Einfluss des Alters zu untersuchen, wurden die teilnehmenden Personen im Alter zwischen 21 - 29 Jahren ( $n = 16$ , Mittelwerte: 24,2 (2,2) Jahre; BMI 23,1 (2,1)  $\text{kg}/\text{m}^2$ ) und diejenigen im Alter zwischen 51 und 82 Jahren ( $n = 16$ , Mittelwerte: 61,0 (8,6) Jahre; BMI 24,6 (3,1)  $\text{kg}/\text{m}^2$ ) gruppiert. Die Unterschiede zwischen den beiden Altersgruppen und zwischen den Geschlechtern in Bezug auf die einzelnen Muskeln MUAP wurden mit Hilfe verallgemeinerter linearer Modelle berechnet, die für Alter, Geschlecht und BMI angepasst worden sind. Alle Berechnungen wurden mit IBM SPSS Version (IBM Corp, Armonk, N.Y., USA) durchgeführt. Die Ergebnisse wurden als statistisch signifikant bei einem Wahrscheinlichkeitsniveau von  $p \leq 0,05$  angesehen.

Die Baseline Noise jedes Muskels wird als Muskeltonus in Ruhe interpretiert, während das Signal die Fähigkeit des Muskels zur Aktivierung während der Kontraktion darstellt. Das SNR spiegelt die Fähigkeit eines Muskels wider, sich von einem nicht kontrahierten in einen kontrahierten Zustand zu ändern.

Die sEMG Messungen zeigten, dass das Alter auf einen Großteil der mimischen Muskulatur keinen statistisch signifikanten Einfluss hat. (Signal  $p=0,234$ // Baseline  $p=0,225$  // SNR  $p=0,432$ )

Das Signal wurde jedoch statistisch signifikant durch das Geschlecht beeinflusst, wobei Männer im Durchschnitt 16,33  $\mu\text{V}$  mehr aufwiesen als alters- und BMI-gleiche Frauen ( $p = 0,034$ ). Dies wird bestätigt, da bei Männern größere Mengen an Neuromodulatoren als bei Frauen notwendig sind, um gewünschte Ergebnisse zu erlangen. Es zeigte sich auch, dass höhere BMI-Werte das gemessene Signal bei alters- und geschlechtsgleichen Kontrollen um durchschnittlich 3,14  $\mu\text{V}$  verringerten ( $p = 0,043$ ). Dies wird damit erklärt, dass die Fettgewebsschichten isolieren und somit das MUAP verringert weitergeleitet wird. Die altersbedingte Abnahme des Signals wurde durchweg für fast alle Gesichtsmuskeln beobachtet, erreichte aber nur für den M. zygomaticus major statistische Signifikanz. Hier wiesen Personen mit höherem Alter im Vergleich zu geschlechts- und BMI-angepassten Kontrollen aus der jüngeren Altersgruppe ein um durchschnittlich 33,72  $\mu\text{V}$  niedrigeres Signal auf ( $p = 0,012$ ). Lediglich der M. zygomaticus major fiel mit einer reduzierten Aktivität im Alter auf, der M. procerus und M. corrugator supercilii zeigten eine gesteigerte Aktivität.

Die allgemeinen Baseline-Noise-Werte zeigten keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen jüngeren und älteren Personen. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass fast alle Gesichtsmuskeln eine geringere Baseline-Noise aufwiesen, mit Ausnahme des Levator labii superioris alaeque nasi (LLSAN) und der Depressor anguli oris (DAO). Diese Verringerung der Baseline-Noise kann auf die altersbedingte Abnahme der Fettmasse im Gesicht zurückgeführt werden, was mit früheren Untersuchungen übereinstimmt und auch bei den hier durchgeführten Funktionsmessungen beobachtet wurde. Obwohl die leichte Zunahme des Baseline-Noise des LLSAN keine statistische Relevanz erreicht, kann sie durch die altersbedingten Veränderungen im zentralen Mittelgesicht erklärt werden.

Das SNR folgte auch dem allgemeinen Trend der Signalanalysen mit einer statistisch signifikanten Verringerung bei Frauen ( $p = 0,050$ ) und bei höheren BMI-Werten ( $p = 0,009$ ) für Alter, Geschlecht und BMI-angepassten statistischen Modus. Es ist plausibel, dass die SNR durch das Verhältnis zwischen dem Signal und der Baseline-Noise beeinflusst wird. Interessanterweise waren der Corrugator supercilii ( $p = 0,005$ ) und der M. procerus ( $p < 0,001$ ) die einzigen Muskeln, die unter allen neun gemessenen Gesichtsmuskeln eine statistisch signifikante Zunahme aufwiesen. Ein erhöhter SNR könnte das Ergebnis einer Zunahme des Signals oder einer Abnahme des Noise sein. Letzteres ist eine Auswirkung der Gesichtsalterung mit einer Verringerung der darüber liegenden (isolierenden) Fettschichten. Beide Effekte (Zunahme des Signals und Abnahme des Noise) wurden für beide Glabellar-Muskeln beobachtet, was zu einer statistisch signifikanten Zunahme ihres SNR führte. Klinisch könnte dieses Ergebnis möglicherweise mit dem Vorhandensein der statischen horizontalen (= Procerus) und vertikalen (= Corrugator supercilii) Glabellafalten zusammenhängen, die bei älteren Personen am stärksten ausgeprägt sind. Für alle anderen untersuchten Gesichtsmuskeln wurden keine derartigen Beziehungen festgestellt

In der zweiten Studie wurde zum ersten Mal die Beziehung zwischen der grundlegenden Muskelaktivität der M. frontalis und der Stirnhaut mit Hilfe von sEMG- und Hautvektorverschiebungsanalyse untersucht. Die Kombination beider Modalitäten ermöglicht einerseits, Rückschlüsse auf die Aktivität des M. frontalis zu ziehen, die für die Bewegung der

darüberliegenden Haut nötig ist und gleichzeitig die direkte Wirkung von BTX-Injektionen zu überwachen. Dafür wurden 11 freiwilligen Probanden nach einem gleichen Schema, 25 I.E von Incobotulinumtoxin Typ A pro Teilnehmer (Xeomin<sup>®</sup>, Bocouture<sup>®</sup>; MerzPharmaceuticals GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland) in den M. frontalis injiziert. An engmaschig gelegten Messterminen wurden die Auswirkungen mit Hilfe eines sEMG und einer 3D-Kamera dokumentiert. Die Messungen wurden vor der Neuromodulator-Injektion durchgeführt, an den Tagen 1,2,3,4,5,7,14 sowie 1,2 und 4 Monate nach der ersten Injektion. Jeder Teilnehmer bekam das Neurotoxin nachfolgendem Schema verabreicht: Je Einstichstelle wurden 2,5 I.E injiziert. Die Konvergenzlinie der Stirn diente als Referenzlinie. So wurden 5 Injektionen oberhalb und 5 Injektionen unterhalb in einer Reihe appliziert. Insgesamt wurden 25 I.E von Incobotulinumtoxin Typ A pro Teilnehmer (Xeomin<sup>®</sup>, Bocouture<sup>®</sup>; MerzPharmaceuticals GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland) injiziert.

### 1. Schweregrad der Stirnfalten

Der Schweregrad der Stirnfalten wurde anhand einer validierten 5-Punkte-Skala bewertet (Grad 0 = keine Falten, Grad 1 = leichte Falten, Grad 2 = mäßige Falten, Grad 3 = starke Falten, Grad 4 = sehr starke Falten). Die Bewertung erfolgte durch einen unabhängigen Beobachter anhand von 3D-Bildern in Ruhe und während der maximalen Kontraktion des M. frontalis bei jeder Nachuntersuchung.

### 2. sEMG

Dazu wurden zwei, nicht invasive, an der Oberfläche haftende drahtlose Sensoren auf der Stirn jedes/r Probanden/in befestigt. Die Sensoren befanden sich zwei Zentimeter oberhalb der behaarten Augenbraue, auf der vertikalen mittleren Pupillarlinie. Während der Aufnahme mussten die Probanden ihren M. frontalis dreimal hintereinander kontrahieren und die Augenbrauen anheben. Die sEMG-Sensoren erfassten das Aktionspotenzial der motorischen Einheit (MUAP) der jeweiligen Bewegungen des darunter liegenden M. frontalis. Die übertragene Information an die sEMG-Empfängerbox (Avanti Trigno Quattro, Delsys Inc., Natick, MA, USA) wurde mit Hilfe der zuständigen Software (EMGworks, 20 Delsys Inc., Natick, MA, USA) analysiert. Die interessanten Variablen waren der Mittelwert der drei durchgeführten Frontalis-Muskelkontraktionen, berechnet als Quadratwurzel aus der maximalen Muskelkontraktion (das Signal, in  $\mu\text{V}$ ) und der Quadratwurzel aus der jeweiligen Muskelaktivität in Ruhe (Die Baseline - Noise in  $\mu\text{V}$ ). Das Signal-Noise-Ratio (SRN) wurde unter Verwendung der 20-Log-Funktion des Verhältnisses zwischen dem Signal geteilt durch das Noise gemäß den Herstellerrichtlinien berechnet. Die Mittelwerte des linken und rechten M. frontalis MUAP wurden gemittelt und für weitere statistische Analysen ohne Seitenvergleiche verwendet.

### 3. Hautverschiebungsvektoren-Analyse

Mit dem Vectra H1-Kamerasystem (Canfield Scientific Inc., Fairfield, New Jersey, USA) wurden 2 Scans aufgenommen, einmal im Ruhemodus (Baseline Scan) und einmal kontrahiert, d.h. mit angehobener Augenbraue (Follow-up Scan). Bei der 3D-Hautoberflächen-Bildgebung

wurde die Verschiebung der Stirnhaut in vertikaler Richtung, vergleichbar mit der Bewegung entlang der y-Achse in einem kartesischen Koordinatensystem, gemessen. Dazu wurden die Follow-up-Scans mit den dazugehörigen Baseline-Scans aufeinander abgestimmt. Die Unterschiede in der Hautposition zwischen maximaler Augenbrauenanhebung und Ruhe wurden mit Hilfe der Hautvektorverschiebungsanalyse über den automatisierten Algorithmus der dazugehörige Vectra Software Suite® (Canfield Scientific Inc., Fairfield, New Jersey, USA) berechnet.

Es zeigte sich, dass die SNR proportional zur vertikalen Hautverschiebung ansteigt. Die Hautvektorverschiebungsanalyse ergab, dass die injizierten 25 I.E Incobotulinumtoxin Typ A zu einer maximalen Verringerung der Stirnhautbewegung um 32,2% im Vergleich zur Bewegungsamplitude vor der Behandlung führte. Dabei wurde diese statistisch relevante Phase nur zwischen Tag 4 und 14 wurde diese statistisch relevante Phase erreicht. Zum Ende der Follow-Up Periode (4 Monate) erreichte das Bewegungspotential nahezu wieder die Ausgangswerte. Eine Reduktion von 100% gab es zu keinem Zeitpunkt der Follow – Up Periode. Dies spiegelte sich auch in den Messungen des sEMG wider: Am 14. Tag nach Injektion des BTX erreichte die Reduktion des MUAP des M. frontalis ihr Maximum, und in keinem Moment wurde das gesamte MUAP eliminiert.

Die Abfolge der Ergebnisse der festgestellten Wirkungen des injizierten Neuromodulators zeigten Folgendes auf: Erstens die Verringerung des semi-quantitativen bewerteten Schweregrads der Stirnfalte ab Tag 3, zweitens die objektiv messbare Reduktion der Hautbewegung ab Tag 4 und drittens die messbare Reduktion des MUAP des M. frontalis mit einem Maximum am Tag 14.

Die semi-quantitative Bewertung gibt Aufschluss über die Evaluierung der Faltenbildung und deren Schweregrad. Es zeigt sich, dass eine klinische relevante Reduktion der Faltenbildung entsteht, jedoch eine Hautbewegung weiterhin präsent ist. Diese erklärt sich vermutlich dadurch, dass ein gewisses Maß an Hautbewegung vorhanden sein muss, um die Aufwölbung der Haut zu produzieren. Bereits bei einer Verringerung der Hautbewegung um 21,3% zeigte sich eine Veränderung im Scoring von 2 auf 0 an Tag 3. Zusätzlich wies das sEMG am dritten Tag lediglich eine Verringerung der SNR um 18,6 % auf, und dennoch erreichte der Schweregrad der Stirnfalte einen Score von 0. Dies lässt vermuten, dass bereits diese MUAP-Reduktion ausreicht, um einen klinischen sichtbaren Effekt zu erzielen. Um aber das Maximum der Reduktion wie in der Periode von Tag 4 bis 14 zu erreichen, ist mindestens eine Verringerung des MUAP des M. frontalis um 32,9% erforderlich. Diese Ergebnisse sind innovativ, da sie zeigen, dass immer noch eine Muskelaktivität vorhanden ist, sich diese aber nicht auf die Stirnhaut in Form von Falten widerspiegelt.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die durchgeführten Messungen relevante Informationen ergaben. Die EMG-Messungen zeigten, dass es keine signifikanten altersbedingten Unterschiede in der Gesichtsmuskelaktivität gibt. Obwohl keine statistisch signifikanten Unterschiede in Bezug auf das Signal, den Baseline Noise oder das SNR festgestellt wurden, wurden deutliche Veränderungen in bestimmten Gesichtsmuskeln, wie

beim M. zygomaticus major, dem M. procerus und dem M. corrugator supercilli, beobachtet. Diese Ergebnisse stimmen mit früheren Studien überein und bestätigen klinisch die Zusammenhänge zwischen diesen Muskeln und dem Alterungsprozess.

Des Weiteren ergab die Untersuchung, dass die Anwendung von 25 I.E. Incobotulinumtoxin eine Verringerung des MUAP im M. frontalis um 20% bewirkt, was zu einer klinischen relevanten Reduktion von Stirnfalten führt. Es ist jedoch zu beachten, dass eine Verringerung von mindestens 33% erforderlich ist, um eine statistische relevante Verringerung der objektiv gemessenen Hautbewegung auf der Stirn zu erreichen und somit der Bildung von Falten entgegenzuwirken.

Diese Erkenntnisse können dazu beitragen liefern, die Effektivität von Behandlungen in der ästhetischen Medizin, wie etwa der Verwendung von BTX, besser verstehen und optimieren zu können. Allerdings sind weitere Forschungen erforderlich, um ein umfassenderes Verständnis der Zusammenhänge zwischen Gesichtsmuskulatur, Alterungsprozess und Behandlungsmethoden zu entwickeln.

## Zusammenfassung

### Publikation 1: Understanding Facial Muscle Aging - A Surface Electromyography Study

#### English-Abstract:

*Background:* The objective of this study was to understand the impact of age on facial muscle activity by examining the motor unit action potential (MUAP) of facial muscles using non-invasive surface electromyography in both young and old healthy volunteers. Facial aging is a complex process that affects all tissues of the face, including skin, muscles, fat, ligaments, and bone. While there is substantial evidence on the effects of aging on facial bones and fat, the influence of age on facial muscle activity is not well understood. The results of this study may contribute to the field by providing a deeper understanding of this topic.

*Material&Methods:* This study involved 32 healthy volunteers with an average age of 42.6 years and a range of 21 to 82 years. Their average BMI was 23.9 kg/m<sup>2</sup> with a range of 18.5 to 29.7 kg/m<sup>2</sup>. The study used non-invasive facial electromyography to measure 9 facial muscles bilaterally for a total of 1632 measurements of muscle signals, noise, and signal-to-noise ratios.

*Results:* The results showed that age does not have a significant impact on the signal, noise, or signal-to-noise ratio ( $p$ -values = 0.234, 0.225, and 0.432, respectively) when comparing younger and older individuals after controlling for gender and BMI. However, the study found that there were differences in muscle activity for three muscles: procerus showed increased activity and the procerus and corrugator supercilii showed reduced activity.

*Conclusions:* The results of the facial EMG study provide insight into facial aging, but additional research is needed to verify these findings and gain a deeper understanding of this topic. Future studies should aim to replicate the results in order to build a stronger understanding of facial aging.

## Deutsch-Abstract

*Hintergrund:* Die Alterung des Gesichts ist ein multifaktorieller Prozess, der alle Gewebe des Gesichts einschließlich Haut, Muskeln, Fett, Bänder und Knochen betrifft. Während für altersbedingte Veränderungen der Knochen und des Gesichtsfetts solide Belege vorliegen, ist der Einfluss des Alters auf die Aktivität der Gesichtsmuskulatur nur unzureichend bekannt. Zielsetzung: Ziel dieser Studie war es, das motorische Aktionspotential (MUAP) der Gesichtsmuskulatur mittels nicht-invasiver Oberflächen-Elektromyographie bei jungen und älteren gesunden Probanden zu untersuchen.

*Material&Methoden:* In der Studie wurden insgesamt 32 gesunde Probanden mit einem Durchschnittsalter von 42,6 (19,6) Jahren [Bereich: 21 - 82] und einem mittleren Body-Mass-Index (BMI) von 23,9 (2,7) kg/m<sup>2</sup> [Bereich: 18,5 - 29,7] mittels oberflächenabgeleiteter, nicht-invasiver Gesichts-Elektromyographie untersucht. Insgesamt wurden 9 Gesichtsmuskeln beidseitig untersucht, was zu insgesamt 1632 Messungen des Signals, des Baseline-Noise und des Signal-Noise-Ratio der neun Muskeln führte.

*Ergebnisse:* Die Ergebnisse der Studie zeigten, dass das Alter keinen signifikanten Einfluss auf das Signal ( $p = 0,234$ ), das Baseline-Noise ( $p = 0,225$ ) oder das Signal-Noise-Ratio (SNR;  $p = 0,432$ ) hat, wenn jüngere Personen (< 30 Jahre) mit älteren Personen (> 50 Jahre) in einem an Geschlecht und BMI angepassten statistischen Modell verglichen werden. Ausnahmen waren die Muskeln (reduzierte Muskelaktivität), Procerus (erhöhte Aktivität) und Corrugator supercilii (erhöhte Aktivität).

*Schlussfolgerungen:* Die Ergebnisse dieser Gesichts-EMG-Studie können zu einem besseren Verständnis des Alterns im Gesicht beitragen. Zukünftige Studien müssen die hier vorgestellten Ergebnisse reproduzieren, um die Vorgänge der Gesichtsalterung weiter besser verstehen zu können.

## Understanding Facial Muscle Aging: A Surface Electromyography Study

Sebastian Cotofana, MD, PhD<sup>a</sup>; Shirin Assemi-Kabir, DDS;  
Samir Mardini, MD; Riccardo E. Giunta, MD, PhD;  
Robert H. Gotkin, MD, FACS; Nicholas Moellhoff, MD; Luiz E.T. Avelar, MD;  
Arnaldo Mercado-Perez, BS; Z. Paul Lorenc, MD; and Konstantin Frank, MD<sup>b</sup>

Aesthetic Surgery Journal  
2021, Vol 41(9) NP1208–NP1217  
© The Author(s) 2021. Published  
by Oxford University Press on behalf  
of The Aesthetic Society. All rights  
reserved. For permissions, please  
e-mail: journals.permissions@oup.com  
DOI: 10.1093/asj/sjab202  
www.aestheticsurgeryjournal.com

**OXFORD**  
UNIVERSITY PRESS

### Abstract

**Background:** Facial aging is a multifactorial process that involves all tissues of the face, including skin, muscles, fat, ligaments, and bone. Whereas robust evidence is available for age-related changes of bone and facial fat, the influence of age on facial muscle activity is poorly understood.

**Objectives:** The objective of this study was to investigate the motor unit action potential of facial muscles by utilizing surface-derived, noninvasive electromyography in young and old healthy volunteers.

**Methods:** The study investigated a total of 32 healthy volunteers with a mean [standard deviation] age of 42.6 [19.6] years (range, 21–82 years) and a mean BMI of 23.9 [2.7] kg/m<sup>2</sup> (range, 18.5–29.7 kg/m<sup>2</sup>) by performing surface-derived, noninvasive facial electromyography. Nine facial muscles were investigated bilaterally, resulting in a total of 1632 measurements of the signal, baseline noise, and signal-to-noise ratio of these muscles.

**Results:** The results of the study revealed that age does not significantly influence the signal ( $P = 0.234$ ), the baseline noise ( $P = 0.225$ ), or the signal-to-noise ratio ( $P = 0.432$ ) of younger individuals (<30 years) vs older individuals (>50 years) in a gender- and BMI-matched statistical model. Exceptions were the zygomaticus major muscle (reduced activity), procerus muscle (increased activity), and corrugator supercilii muscle (increased activity).

**Conclusions:** The results of this facial electromyography study may help to increase the understanding of facial aging. Future studies need to reproduce the results presented herein to further increase our understanding of facial aging.

Editorial Decision date: April 8, 2021; online publish-ahead-of-print May 4, 2021.

Facial aging is a multifactorial process that involves all tissues of the face, including skin, muscles, fat, ligaments, and bone.<sup>1–9</sup> Although great efforts are made to camouflage the

signs of facial aging in today's society,<sup>10–16</sup> a comprehensive understanding of all the factors contributing to this process involved remains elusive.

Dr Cotofana is an associate professor, Dr Mercado-Perez is a PhD student, and Dr Frank is a physician, Department of Clinical Anatomy, Mayo Clinic College of Medicine and Science, Rochester, MN, USA. Dr Assemi-Kabir is a dentist, Dr Giunta is a physician, and Dr Moellhoff is a physician, Department for Hand, Plastic, and Aesthetic Surgery, Ludwig-Maximilian University, Munich, Germany. Dr Mardini is a physician, Division of Plastic and Reconstructive Surgery, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA. Dr Gotkin is a physician in private practice in New York, NY, USA. Dr Avelar is a physician in

private practice in Belo Horizonte, Brazil. Dr Lorenc is a physician, Department of Plastic Surgery, Lenox Hill Hospital, New York, NY, USA.

### Corresponding Author:

Dr Sebastian Cotofana, Department of Clinical Anatomy, Mayo Clinic College of Medicine and Science, Mayo Clinic, Stabile Building 9-38, 200 First Street, Rochester, MN 55905, USA.  
E-mail: [cotofana.sebastian@mayo.edu](mailto:cotofana.sebastian@mayo.edu);  
Instagram: [@professorsebastiancotofana](https://www.instagram.com/professorsebastiancotofana)

Previous studies have tried to decode facial aging by investigating each facial tissue separately. A plethora of studies utilizing computed tomographic imaging of facial bones have identified that the volume of the calvaria and the height of the midface reduce as individuals age.<sup>1,2,17-19</sup> The angles of various facial bones have been documented to change over time; this results in significant bone remodeling of the central middle face.<sup>2</sup>

The facial fat compartments undergo age-related inferior displacement; this is most significant for some of the superficial fat compartments,<sup>9</sup> but has not been observed for the deep facial fat compartments.<sup>8</sup> Additionally, it has been shown via ultrasound imaging that, with increasing age, the thickness of the facial fatty layers diminishes.<sup>20</sup> This favors a generalized fat tissue redistribution that results in a more skeletonized facial appearance in older individuals.<sup>1</sup> Whereas the aging of the skin is well characterized by the term “exposome,”<sup>21</sup> little to nothing is known about age-related changes of the facial ligaments or muscles.

One attempt to understand facial muscle aging was reported in 2007 by Le Louam et al, who utilized magnetic tomographic imaging in 20 patients and analyzed nonstandardized cross-sectional images of younger and older individuals to establish the orientation of midfacial muscles.<sup>22</sup> The authors interestingly concluded, based on the muscle morphology (as seen on the magnetic resonance images), that muscle resting tone increases with age and that the contractile amplitude and the direction of muscle contraction is influenced by age. These results should be interpreted with caution as no functional analysis of the facial muscles was conducted to support the claims of the authors. Performing electromyography of the facial muscles would have provided more robust evidence for facial muscle activity and would potentially have allowed for age-related conclusions.

However, to date, no study has provided conclusive evidence of the age-related changes of the facial muscles in a way that would increase our understanding of facial muscle aging. Therefore, the objective of our study was to investigate the motor unit action potential (MUAP) of facial muscles by performing surface-derived, noninvasive electromyography (sEMG) on both young (age <30 years) and old (age >50 years) healthy volunteers. The results will be the first available functional data on facial muscle activity in younger and older individuals, which we hope will contribute to our increased understanding of facial aging.

## METHODS

### Study Sample

The study investigated a total of 32 healthy volunteers between June and September 2020. Participants were

recruited on a voluntary basis and were considered available for inclusion in the study if they reported no previous minimally invasive procedures (soft tissue filler or neuromodulator injections) of the face, no facial surgery, no significant facial trauma, or any diseases that could potentially disrupt the integrity of their facial anatomy or normal facial muscle function.

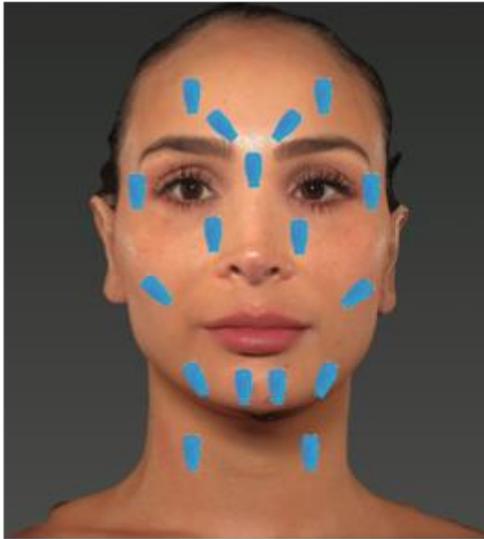
Written informed consent was obtained from all participants prior to inclusion in the study for the use of their images and personal data for research purposes. This study was performed according to the Declaration of Helsinki (1996),<sup>23</sup> and received IRB approval from the ethical committee of the Ludwig-Maximilian University, Munich, Germany under approval number 19-971.

### Measurements Conducted

sEMG measurements were obtained from all participants in an upright seated position. Noninvasive, surface-adherent, wireless sensors were positioned on the face of each participant to detect the MUAP of the respective underlying muscle. The optimal location for detecting a specific MUAP of a single facial muscle was previously determined according to a standardized protocol.<sup>24</sup> The facial muscle of interest was determined and the volunteer was asked to perform the respective facial expression which resulted in the contraction of that underlying facial muscle. The following facial muscles were investigated with a commercially available EMG device (Trigno Avanti Quattro, Delsys Inc., Natick, MA) (Figure 1):

- Frontalis muscle (elevation of the forehead and eyebrows—surprised facial expression)
- Procerus muscle (frowning of the glabella—angry facial expression)
- Corrugator muscle (frowning of the glabella—angry facial expression)
- Orbicularis oculi muscle (forceful closing of the eyes)
- Levator labii superioris alaeque nasi muscle (facial expression of disgust)
- Zygomaticus major muscle (smiling—happy facial expression)
- Mentalis muscle (everting the lower lip—facial expression of pouting)
- Depressor anguli oris muscle (depression of oral commissure—sad facial expression)
- Platysma (neck contraction—forced platysmal band exposure)

Participants were asked to test each facial expression in front of a mirror or in front of their cellphones for training purposes. For study purposes, participants performed each facial expression 3 times and the 3 respective MUAPs were captured and transmitted to the Trigno Avanti EMG workstation. The detected MUAP was imported into the



**Figure 1.** Schematic photograph showing the position of the facial locations which were assessed with wireless sensors in a 32-year-old female.

proprietary software (EMGworks, Delsys Inc., Natick, MA) and analyzed for the variable of interest. Technical specifications of the EMG are outlined in the user manual provided by the manufacturer (<https://delsys.com/downloads/USERSGUIDE/trigno/wireless-biofeedback-system.pdf>) and are described here in brief: sensor size, 25 × 12 × 7 mm; sensor weight, 25 g; interelectrode spacing, 10 mm; reference type, dual on-board stabilizing reference; sampling rate, 2222 sa/second; EMG input range, 11 mV; wireless protocol, 2400 to 2483 GHz ISM band; EMG bandwidth, 10 to 850 Hz; sensor resolution, 16 bits; EMG baseline noise, 750 nV; on-board EMG filter, Butterworth bandpass with 40/80 dB/decade; and root mean square envelope calculation, 100-ms window.<sup>24</sup>

### Analytic Procedure

The variables of interest were the mean value of the 3 facial muscle contractions performed, calculated as the root mean square of the respective maximal muscle contraction (= signal, in  $\mu\text{V}$ ) and the root mean square of the respective muscle activity at rest (= baseline noise, in  $\mu\text{V}$ ). The signal-to-noise ratio (SNR) was calculated from the 20 log function of the ratio between the signal divided by the baseline noise according to the manufacturer's guideline.<sup>24</sup>

The baseline noise of each muscle could be interpreted as a muscle's resting tone, whereas the signal of a muscle could be interpreted as a muscle's capacity to activate during muscle contraction. As these are absolute values, they are subject to interindividual variation. The SNR, however, is a relative value that reflects a muscle's ability to change its conformation from a noncontracted to a contracted state and is thus free of interindividual variability because it serves as its own reference (Figure 2).

Due to facial asymmetry, the measurements of the left and the right side of the face were treated as separate datasets, resulting in a total sample size of  $n = 64$  hemifaces.

Differences between the 2 age groups and between genders related to each muscle's MUAP were calculated from generalized linear models with adjustment for age, gender, and BMI. All calculations were performed with IBM SPSS version 27 (IBM Corp., Armonk, NY), and results were considered statistically significant at a probability level of  $P \leq 0.05$ .

## RESULTS

### General Description

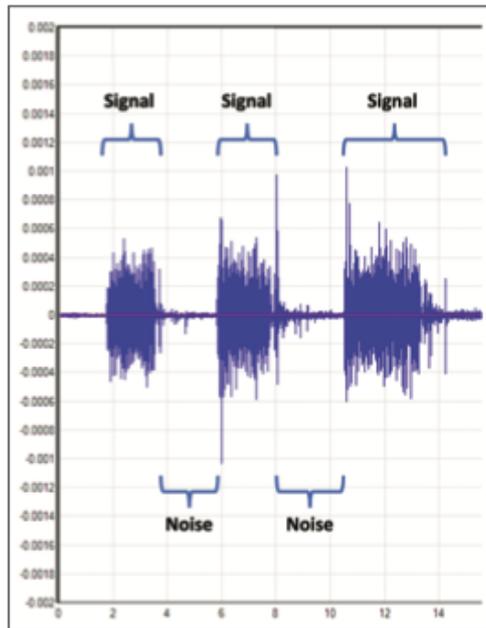
The 32 subjects comprised of 18 females (mean age, 42.5 [19.7] years; BMI, 23.6 [3.2]  $\text{kg}/\text{m}^2$ ) and 14 males (mean age, 42.7 [19.8] years; BMI, 24.2 [1.9]  $\text{kg}/\text{m}^2$ ). For this investigation a total of 1632 sEMG signals were recorded from 9 bilaterally measured facial muscles in 32 study participants with a mean age of 42.6 [19.6] years (range, 21–82 years) and a mean BMI of 23.9 [2.7]  $\text{kg}/\text{m}^2$  (range, 18.5–29.7  $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

To investigate the influence of age, the total sample was stratified into those aged between 21 and 29 years ( $n = 16$ , mean [standard deviation] age, 24.2 [2.2] years; BMI, 23.1 [2.1]  $\text{kg}/\text{m}^2$ ) and those aged between 51 and 82 years ( $n = 16$ , mean age, 61.0 [8.6] years; BMI, 24.6 [3.1]  $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

Calculating differences between the studied groups revealed that there was no statistically significant difference in age ( $P = 0.976$ ) or BMI ( $P = 0.589$ ) between genders. Additionally, there were no statistically significant differences in the distribution of males vs females when comparing the young vs the old age group ( $P = 0.639$ ) and no statistically significant difference between BMIs ( $P = 0.130$ ).

### Facial Muscle Aging–Signal Analysis

Overall, age did not significantly influence absolute facial muscle activity (ie, signal) in gender- and BMI-matched controls ( $P = 0.234$ ). However, the signal was significantly influenced by gender with males displaying 16.33  $\mu\text{V}$



**Figure 2.** Surface-derived, noninvasive electromyography data obtained from 3 consecutive frontalis muscle contractions. Areas of signal and noise measurements (root mean squared) are indicated. x axis, timeline of the contractions; y axis, signal in  $\mu\text{V}$ .

more, on average, than age- and BMI-matched females ( $P = 0.034$ ). Higher values of BMI were revealed to decrease the measured signal by  $3.14 \mu\text{V}$ , on average, in age- and gender-matched controls ( $P = 0.043$ ).

An age-related decrease of the signal was consistently observed for almost all facial muscles but reached statistical significance only for the zygomaticus major muscle. Here, individuals of older age displayed, on average, a  $33.72 \mu\text{V}$  lower signal than gender- and BMI-matched controls from the younger age group ( $P = 0.012$ ). Two muscles increased their signal in the older age group but failed to reach statistical significance: the procerus muscle and corrugator supercilii muscles. Detailed results are presented in Tables 1 and 2 (Figure 3).

### Facial Muscle Aging–Noise Analysis

Overall, no statistically significant influence of age ( $P = 0.225$ ), gender ( $P = 0.323$ ), or BMI ( $P = 0.207$ ) was detected on the baseline activity of facial muscles (ie, baseline noise). However, there was a trend toward a reduction

in baseline noise in the older age group that reached statistical significance for the zygomaticus major and for the corrugator supercilii muscles; here the older age group displayed a reduction in their noise values of  $6.31 \mu\text{V}$  ( $P < 0.001$ ) and  $10.13 \mu\text{V}$  ( $P = 0.022$ ) in gender- and BMI-matched controls, respectively. Detailed results are presented in Tables 1 and 2 (Figure 4).

### Facial Muscle Aging–SNR

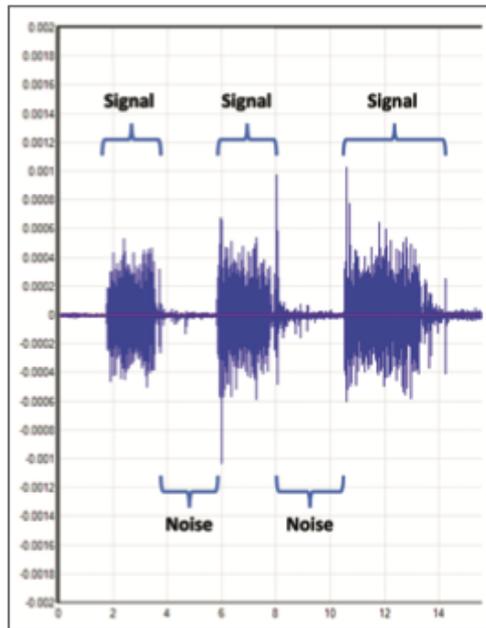
Overall, the SNR was not significantly influenced by age ( $P = 0.423$ ). Nonetheless, it followed the general trend displayed by the signal analyses with a statistically significant reduction in females ( $P = 0.050$ ) and for higher values of BMI ( $P = 0.009$ ) in adjusted models for age-, gender-, and BMI-matched controls. The corrugator supercilii and procerus muscles were exceptions, however. Here, age was identified to significantly increase the SNR, with individuals in the older age group having a greater SNR by 8.77 (compared to the younger age group) for the procerus muscle ( $P < 0.001$ ) and by 3.89 for the corrugator supercilii muscle ( $P = 0.005$ ). No such relations were identified for any of the other investigated facial muscles. Detailed results are presented in Tables 1 and 2 (Figure 5).

### DISCUSSION

This study investigated, for the first time, the electrophysiologic characteristics of facial muscles and conducted comparisons between younger vs older individuals and between genders. The methods utilized in this study relied on sEMG, which measures the MUAP of activated facial muscles. A total of 9 facial muscles were investigated bilaterally, resulting in a total of 1632 conducted measurements.

The results of the study revealed that age does not significantly influence the signal ( $P = 0.234$ ), the baseline noise ( $P = 0.225$ ), or the SNR ( $P = 0.432$ ) when comparing younger (<30 years) and older (>50 years) individuals in a gender- and BMI-matched statistical model.

The parameters of interest were the absolute signal (based on the mean of 3 repeats) when a muscle contraction is performed, which can be regarded as the muscle's electric impulse during its contraction. This is subject to variation between individual facial muscles of the same person and between individuals themselves, and is influenced by the size and the location of the respective facial muscle (Tables 1 and 2). However, the signal provides a crude estimate of a muscle's ability to contract. With increasing age, it could be hypothesized that this ability diminishes over time and older individuals display a reduced signal compared with gender- and BMI-matched controls. The results of the study revealed additionally that males



**Figure 2.** Surface-derived, noninvasive electromyography data obtained from 3 consecutive frontalis muscle contractions. Areas of signal and noise measurements (root mean squared) are indicated. x axis, timeline of the contractions; y axis, signal in  $\mu\text{V}$ .

more, on average, than age- and BMI-matched females ( $P = 0.034$ ). Higher values of BMI were revealed to decrease the measured signal by  $3.14 \mu\text{V}$ , on average, in age- and gender-matched controls ( $P = 0.043$ ).

An age-related decrease of the signal was consistently observed for almost all facial muscles but reached statistical significance only for the zygomaticus major muscle. Here, individuals of older age displayed, on average, a  $33.72 \mu\text{V}$  lower signal than gender- and BMI-matched controls from the younger age group ( $P = 0.012$ ). Two muscles increased their signal in the older age group but failed to reach statistical significance: the procerus muscle and corrugator supercilii muscles. Detailed results are presented in Tables 1 and 2 (Figure 3).

### Facial Muscle Aging–Noise Analysis

Overall, no statistically significant influence of age ( $P = 0.225$ ), gender ( $P = 0.323$ ), or BMI ( $P = 0.207$ ) was detected on the baseline activity of facial muscles (ie, baseline noise). However, there was a trend toward a reduction

in baseline noise in the older age group that reached statistical significance for the zygomaticus major and for the corrugator supercilii muscles; here the older age group displayed a reduction in their noise values of  $6.31 \mu\text{V}$  ( $P < 0.001$ ) and  $10.13 \mu\text{V}$  ( $P = 0.022$ ) in gender- and BMI-matched controls, respectively. Detailed results are presented in Tables 1 and 2 (Figure 4).

### Facial Muscle Aging–SNR

Overall, the SNR was not significantly influenced by age ( $P = 0.423$ ). Nonetheless, it followed the general trend displayed by the signal analyses with a statistically significant reduction in females ( $P = 0.050$ ) and for higher values of BMI ( $P = 0.009$ ) in adjusted models for age-, gender-, and BMI-matched controls. The corrugator supercilii and procerus muscles were exceptions, however. Here, age was identified to significantly increase the SNR, with individuals in the older age group having a greater SNR by 8.77 (compared to the younger age group) for the procerus muscle ( $P < 0.001$ ) and by 3.89 for the corrugator supercilii muscle ( $P = 0.005$ ). No such relations were identified for any of the other investigated facial muscles. Detailed results are presented in Tables 1 and 2 (Figure 5).

### DISCUSSION

This study investigated, for the first time, the electrophysiologic characteristics of facial muscles and conducted comparisons between younger vs older individuals and between genders. The methods utilized in this study relied on sEMG, which measures the MUAP of activated facial muscles. A total of 9 facial muscles were investigated bilaterally, resulting in a total of 1632 conducted measurements.

The results of the study revealed that age does not significantly influence the signal ( $P = 0.234$ ), the baseline noise ( $P = 0.225$ ), or the SNR ( $P = 0.432$ ) when comparing younger (<30 years) and older (>50 years) individuals in a gender- and BMI-matched statistical model.

The parameters of interest were the absolute signal (based on the mean of 3 repeats) when a muscle contraction is performed, which can be regarded as the muscle's electric impulse during its contraction. This is subject to variation between individual facial muscles of the same person and between individuals themselves, and is influenced by the size and the location of the respective facial muscle (Tables 1 and 2). However, the signal provides a crude estimate of a muscle's ability to contract. With increasing age, it could be hypothesized that this ability diminishes over time and older individuals display a reduced signal compared with gender- and BMI-matched controls. The results of the study revealed additionally that males

**Table 1.** Values of the Measured Signal, Baseline Noise, and the SNR for All 9 Measured Facial Muscles and Overall

|  |        | Young group   | Old group     | P value |
|--|--------|---------------|---------------|---------|
| Overall                                      | Signal | 132.88 (26.3) | 118.58 (38.4) | 0.234   |
|  | Noise  | 29.52 (66.1)  | 16.18 (5.3)   | 0.225   |
|  | SNR    | 16.61 (2.2)   | 16.70 (3.4)   | 0.423   |
| Frontalis muscle                             | Signal | 108.77 (52.2) | 87.13 (39.1)  | 0.085   |
|  | Noise  | 18.40 (9.3)   | 18.31 (15.4)  | 0.605   |
|  | SNR    | 15.65 (4.4)   | 14.24 (4.9)   | 0.318   |
| Corrugator supercillii muscle                | Signal | 114.77 (43.4) | 132.25 (74.1) | 0.302   |
|  | Noise  | 26.60 (19.6)  | 16.94 (11.4)  | 0.022   |
|  | SNR    | 14.31 (4.4)   | 18.20 (6.4)   | 0.005   |
| Procerus muscle                              | Signal | 117.06 (65.6) | 134.42 (92.0) | 0.753   |
|  | Noise  | 19.25 (14.8)  | 14.05 (10.3)  | 0.169   |
|  | SNR    | 10.0 (5.5)    | 18.77 (5.6)   | <0.001  |
| Orbicularis oculi muscle                     | Signal | 164.00 (89.6) | 141.99 (62.2) | 0.424   |
|  | Noise  | 16.49 (8.3)   | 15.30 (9.3)   | 0.387   |
|  | SNR    | 19.39 (7.2)   | 19.64 (6.0)   | 0.567   |
| Zygomaticus major muscle                     | Signal | 144.86 (62.7) | 101.47 (47.4) | 0.012   |
|  | Noise  | 15.11 (8.1)   | 9.03 (3.7)    | <0.001  |
|  | SNR    | 20.26 (7.1)   | 20.79 (4.4)   | 0.236   |
| Levator labii superioris alaeque nasi muscle | Signal | 103.03 (75.0) | 99.53 (70.5)  | 0.948   |
|  | Noise  | 14.27 (8.8)   | 15.19 (7.6)   | 0.823   |
|  | SNR    | 16.20 (7.4)   | 15.29 (5.7)   | 0.077   |
| Mentalis muscle                              | Signal | 186.66 (75.3) | 167.88 (77.3) | 0.522   |
|  | Noise  | 28.16 (16.2)  | 27.31 (13.8)  | 0.729   |
|  | SNR    | 17.68 (7.0)   | 16.07 (5.4)   | 0.516   |
| Depressor anguli oris muscle                 | Signal | 202.54 (82.1) | 176.08 (82.5) | 0.358   |
|  | Noise  | 16.2 (3.4)    | 24.88 (26.1)  | 0.310   |
|  | SNR    | 23.00 (5.7)   | 19.62 (6.0)   | 0.136   |
| Platysma muscle                              | Signal | 114.69 (51.0) | 93.55 (65.1)  | 0.378   |
|  | Noise  | 16.07 (14.1)  | 11.66 (5.3)   | 0.142   |
|  | SNR    | 18.17 (5.2)   | 17.07 (5.4)   | 0.886   |

P value was calculated via generalized linear models with adjustment for age, gender, and BMI to reveal differences between the young and old age groups. Signal in  $\mu V$  ( $\pm 1$  standard deviation). Noise in  $\mu V$  ( $\pm 1$  standard deviation). SNR, signal-to-noise ratio.

produced a higher signal than females; this can be associated with the increased muscle mass in males vs females. This is confirmed clinically by the need to apply larger amounts of neuromodulators during facial treatments in males than in females.<sup>25</sup> Higher BMI values were related

to a reduced signal; fat acts like an insulating layer around contracting muscles and can thus diminish the recorded MUAP which is measured at the skin surface.

In the present study, the overall analysis of all facial muscles revealed that age did not influence the signal

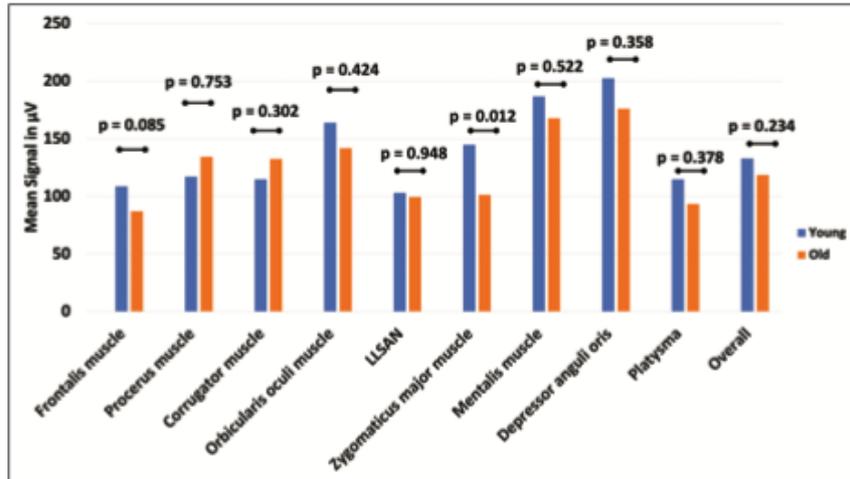
**Table 2.** Values of the Measured Signal, Baseline Noise, and SNR for All 9 Measured Facial Muscles and Overall

|  |        | Female        | Male           | P value |
|--|--------|---------------|----------------|---------|
| Overall                                      | Signal | 119.57 (33.4) | 133.69 (32.6)  | 0.034   |
|  | Noise  | 17.06 (5.8)   | 30.33 (70.9)   | 0.323   |
|  | SNR    | 16.23 (3.1)   | 17.23 (2.3)    | 0.050   |
| Frontalis muscle                             | Signal | 90.51 (39.8)  | 107.50 (54.2)  | 0.120   |
|  | Noise  | 19.22 (15.0)  | 17.25 (8.8)    | 0.456   |
|  | SNR    | 14.21 (4.0)   | 15.89 (5.3)    | 0.128   |
| Corrugator supercilii muscle                 | Signal | 119.81 (65.4) | 128.88 (55.6)  | 0.593   |
|  | Noise  | 20.60 (18.7)  | 23.15 (13.4)   | 0.518   |
|  | SNR    | 16.38 (6.0)   | 16.16 (5.5)    | 0.845   |
| Procerus muscle                              | Signal | 125.61 (80.0) | 125.90 (81.0)  | 0.012   |
|  | Noise  | 17.05 (14.2)  | 16.14 (11.3)   | 0.771   |
|  | SNR    | 15.18 (7.9)   | 13.36 (5.9)    | 0.257   |
| Orbicularis oculi muscle                     | Signal | 127.23 (69.5) | 186.94 (74.50) | <0.001  |
|  | Noise  | 13.69 (6.4)   | 18.82 (10.6)   | 0.034   |
|  | SNR    | 18.70 (7.0)   | 20.60 (5.9)    | 0.169   |
| Zygomaticus major muscle                     | Signal | 110.95 (63.3) | 138.65 (50.0)  | 0.006   |
|  | Noise  | 12.13 (7.2)   | 11.87 (6.7)    | 0.873   |
|  | SNR    | 19.43 (6.4)   | 22.00 (4.8)    | 0.018   |
| Levator labii superioris alaeque nasi muscle | Signal | 86.48 (59.24) | 120.95 (83.6)  | 0.056   |
|  | Noise  | 13.30 (5.7)   | 16.65 (10.4)   | 0.383   |
|  | SNR    | 15.33 (6.1)   | 16.27 (7.2)    | 0.520   |
| Mentalis muscle                              | Signal | 192.72 (80.5) | 156.32 (66.1)  | 0.069   |
|  | Noise  | 28.37 (14.3)  | 26.87 (16.0)   | 0.644   |
|  | SNR    | 17.41 (6.5)   | 16.13 (5.9)    | 0.499   |
| Depressor anguli oris muscle                 | Signal | 198.35 (87.9) | 176.77 (75.08) | 0.336   |
|  | Noise  | 24.59 (24.9)  | 135.03 (62.8)  | 0.355   |
|  | SNR    | 20.55 (5.7)   | 22.26 (6.4)    | 0.095   |
| Platysma muscle                              | Signal | 87.22 (51.36) | 126.26 (62.3)  | 0.001   |
|  | Noise  | 13.08 (9.8)   | 14.84 (12.0)   | 0.516   |
|  | SNR    | 16.48 (5.3)   | 19.11 (4.9)    | 0.009   |

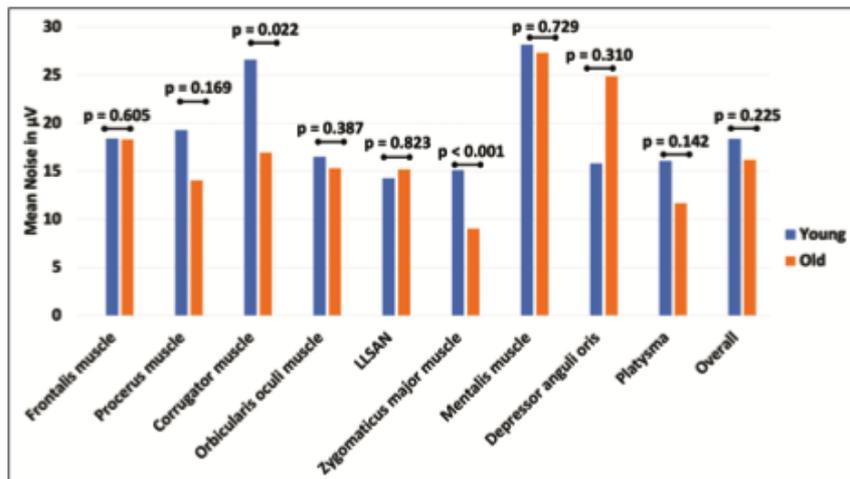
P value was calculated via generalized linear models with adjustment for age, gender, and BMI to reveal differences between genders. SNR, signal-to-noise ratio.

of facial muscles at a statistically significant threshold. However, a trend was visible toward a reduced signal in the older age group, but this failed to reach statistical significance in most of the investigated facial muscles. An exception was the zygomaticus major muscle; this

muscle displayed a statistically significant reduction of its signal in the older age group ( $P = 0.012$ ) and this could be interpreted as the muscle's limited ability to contract forcefully in older individuals. This interesting observation is supported by the findings of a recent functional



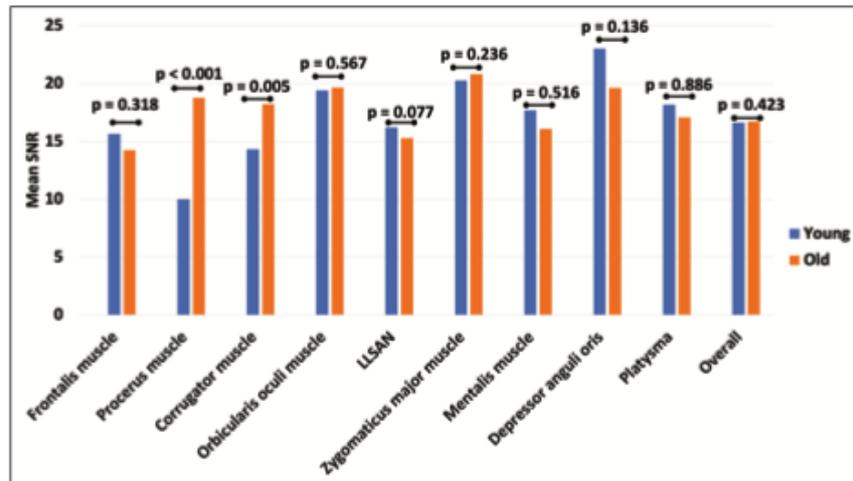
**Figure 3.** Bar graph showing the mean signal in  $\mu\text{V}$  for the investigated regions of interest for younger and older individuals. Statistical differences between the younger and older age groups are given. Due to space limitations of the bar graph, the corrugator supercillii muscle was abbreviated to corrugator muscle and the levator labii superioris alaeque nasi muscle to LLSAN.



**Figure 4.** Bar graph showing the mean noise in  $\mu\text{V}$  for the investigated regions of interest for younger and older individuals. Statistical differences between the younger and older age groups are given. Due to space limitations of the bar graph, the corrugator supercillii muscle was abbreviated to corrugator muscle and the levator labii superioris alaeque nasi muscle to LLSAN.

investigation which utilized ultrasound imaging to measure the venous blood flow in the angular vein.<sup>26</sup> In younger individuals the venous blood flow is blocked by the compression of the overlying zygomaticus major muscle; in older individuals it was identified that the

angular vein remains patent due to the limited ability of the zygomaticus major muscle to contract. This was represented by a positive correlation coefficient between increasing age and increasing venous blood flow:  $r_p = 0.469$ ;  $P = 0.016$ .<sup>26</sup>



**Figure 5.** Bar graph showing the signal-to-noise ratio for the investigated regions of interest for younger and older individuals. Statistical differences between the younger and older age groups are given. Due to space limitations of the bar graph, the corrugator supercillii muscle was abbreviated to corrugator muscle and the levator labii superioris alaeque nasi muscle to LLSAN. SNIR, signal-to-noise-plus-interference ratio.

The measured signal of an individual muscle is related to the baseline noise of EMG measurements, which is the sum of ambient electric noise, electrophysiologic interference from overlying structures (other muscles or fatty tissue), and the resting tone of the underlying muscle. In the present study, the overall baseline noise displayed no statistically significant difference between younger vs older individuals. This contradicts the MRI study by Le Louarn et al, which suggested that at older age the resting tone of facial muscles is increased.<sup>22</sup> Moreover, it was identified that almost all facial muscles had a reduced baseline noise with the exception of the levator labii superioris alaeque nasi (LLSAN) and the depressor anguli oris, although this reduction failed to reach statistical significance. This reduction in baseline noise can be attributed to the age-related reduction in facial fat mass; this is in line with previous investigations and was observed in the functional measurements performed herein. Despite failing to reach statistical relevance, the slight increase in baseline noise of the LLSAN can be explained by the age-related changes in the central midface: the overlying fat compartments descend with advancing age and increase the local thickness of fat covering the LLSAN. This increased amount of insulating fat most likely increases the baseline noise in older individuals. This exact same phenomenon was identified in a previous computed tomography imaging investigation of 156 Caucasians which measured the depth of the

angular artery in the midface.<sup>27</sup> In that study, the authors similarly found an increase in the fatty layer overlying this area in older individuals<sup>27</sup> and related this finding to the age-related changes of the central midface comparable to the results presented herein.

Whereas the signal and the baseline noise of a muscle's contraction are absolute measurements, the SNR is a relative parameter. This parameter was previously shown to be of greater reliability when trying to interpret EMG data or to compare across different investigations.<sup>28</sup> In the present study, the SNR did not show a statistically significant difference between the younger and older age groups. It is plausible that the SNR is influenced by the relation between the signal and the baseline noise value. Interestingly, the corrugator supercillii ( $P = 0.005$ ) and the procerus muscles ( $P < 0.001$ ) were the only muscles that displayed a statistically significant increase among all 9 measured facial muscles. An increased SNR could be the result of an increase in the signal or of a decrease in the noise, respectively; the latter being an effect of facial aging with a reduction of the overlying (insulating) fatty layers. Both effects (increase of signal and decrease of noise) (Table 1) were observed for both glabellar muscles, resulting in the statistically significant increase of their SNR.

Clinically, this outcome could potentially be related to the presence of the static horizontal (from the procerus) and vertical (from the corrugator supercillii) glabellar lines,

which are most prominent in older individuals. In this location, in particular, it can be speculated that the transition from dynamic to static facial lines is facilitated by the increased muscle activity of the underlying muscles which is an age-related effect and is reflected by the increased values of the SNR of this study. Extrapolating these results would potentially indicate that the treatment of the glabella with neuromodulators is not an aesthetic approach reflective of a patient's vanity but could be an age-related possibility to counteract the normal and physiologic process of facial aging. However, age-related changes observed on the skin surface are caused by a plethora of other influencing factors, in addition to facial muscles, which include all tissues located in the face. Linking age-related skin surface changes directly to age-related changes of facial muscles is unifactorial and should be avoided when trying to understand the multifactorial facial aging process.

This study is not free of limitations. The results presented herein are subject to interindividual variation and could differ when repeated in an Asian or in an African-American population. Furthermore, the sample size is limited to only 32 healthy volunteers. A larger sample size could produce more reliable data. However, this is the first study of its kind and, therefore, a robust power calculation could not be performed a priori. The authors of this study strongly encourage colleagues across the world to reproduce the data and to verify the results presented herein in a larger sample size and with other EMG-based methods. It is expected that other methods will reveal different absolute values, but the trend should be similar to the results presented herein.

## CONCLUSIONS

The results of this EMG-based study reveal that no statistically significant difference in signal, baseline noise, or SNR could be detected when comparing the facial muscle activity of younger vs older individuals. Distinct changes in the zygomaticus major, procerus, and corrugator supercilii muscles were confirmed by clinical observations, in line with previously published experimental studies, but the data should be understood within the limitations of this investigation. Future studies need to reproduce and to expand on the results presented herein to increase our understanding of facial muscle aging.

## Disclosures

The authors declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and publication of this article.

## Funding

This study was financially supported by a grant from Merz North America Inc. (Raleigh, NC) under grant number 2262019.

## REFERENCES

- Cotofana S, Gotkin RH, Ascher B, et al. Calvarial volume loss and facial aging: a computed tomographic (CT)-based study. *Aesthet Surg J*. 2018;38(10):1043-1051.
- Cotofana S, Gotkin RH, Morozov SP, et al. The relationship between bone remodeling and the clockwise rotation of the facial skeleton—a computed tomography imaging based evaluation. *Plast Reconstr Surg*. 2018;42(6):1447-1454.
- Frank K, Gotkin RH, Pavicic T, et al. Age and gender differences of the frontal bone: a computed tomographic (CT)-based study. *Aesthet Surg J*. 2018;39(7):699-710.
- Pessa JE. An algorithm of facial aging: verification of Lambros's theory by three-dimensional stereolithography, with reference to the pathogenesis of midfacial aging, scleral show, and the lateral suborbital trough deformity. *Plast Reconstr Surg*. 2000;106(2):479-488.
- Cotofana S, Mian A, Sykes JM, et al. An update on the anatomy of the forehead compartments. *Plast Reconstr Surg*. 2017;139(4):864e-872e.
- Schenck TL, Koban KC, Schlattau A, et al. Updated anatomy of the buccal space and its implications for plastic, reconstructive and aesthetic procedures. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2018;71(2):162-170.
- Cotofana S, Fratila AA, Schenck TL, Redka-Swoboda W, Zilinsky I, Pavicic T. The anatomy of the aging face: a review. *Facial Plast Surg*. 2016;32(3):253-260.
- Cotofana S, Gotkin RH, Frank K, et al. The functional anatomy of the deep facial fat compartments: a detailed imaging-based investigation. *Plast Reconstr Surg*. 2019;143(1):53-63.
- Schenck TL, Koban KC, Schlattau A, et al. The functional anatomy of the superficial fat compartments of the face: a detailed imaging study. *Plast Reconstr Surg*. 2018;141(6):1351-1359.
- Casabona G, Bernardini FP, Skippen B, et al. How to best utilize the line of ligaments and the surface volume coefficient in facial soft tissue filler injections. *J Cosmet Dermatol*. 2020;19(2):303-311.
- Frank K, Koban K, Targosinski S, et al. The anatomy behind adverse events in hand volumizing procedures: retrospective evaluations of 11 years of experience. *Plast Reconstr Surg*. 2018;141(5):650e-662e.
- Cotofana S, Gaete A, Hernandez CA, et al. The six different injection techniques for the temple relevant for soft tissue filler augmentation procedures—clinical anatomy and danger zones. *J Cosmet Dermatol*. 2020;19(7):1570-1579.
- Casabona G, Frank K, Moellhoff N, et al. Full-face effects of temporal volumizing and temporal lifting techniques. *J Cosmet Dermatol*. 2020;19(11):2830-2837.
- Cotofana S, Schenck TL, Trevidic P, et al. Midface: clinical anatomy and regional approaches with injectable fillers. *Plast Reconstr Surg*. 2015;136(5 Suppl):219S-234S.
- Sykes JM, Cotofana S, Trevidic P, et al. Upper face: clinical anatomy and regional approaches with injectable fillers. *Plast Reconstr Surg*. 2015;136(5 Suppl):204S-218S.
- Braz A, Humphrey S, Weinkle S, et al. Lower face: clinical anatomy and regional approaches with injectable fillers. *Plast Reconstr Surg*. 2015;136(5 Suppl):235S-257S.

which are most prominent in older individuals. In this location, in particular, it can be speculated that the transition from dynamic to static facial lines is facilitated by the increased muscle activity of the underlying muscles which is an age-related effect and is reflected by the increased values of the SNR of this study. Extrapolating these results would potentially indicate that the treatment of the glabella with neuromodulators is not an aesthetic approach reflective of a patient's vanity but could be an age-related possibility to counteract the normal and physiologic process of facial aging. However, age-related changes observed on the skin surface are caused by a plethora of other influencing factors, in addition to facial muscles, which include all tissues located in the face. Linking age-related skin surface changes directly to age-related changes of facial muscles is unifactorial and should be avoided when trying to understand the multifactorial facial aging process.

This study is not free of limitations. The results presented herein are subject to interindividual variation and could differ when repeated in an Asian or in an African-American population. Furthermore, the sample size is limited to only 32 healthy volunteers. A larger sample size could produce more reliable data. However, this is the first study of its kind and, therefore, a robust power calculation could not be performed a priori. The authors of this study strongly encourage colleagues across the world to reproduce the data and to verify the results presented herein in a larger sample size and with other EMG-based methods. It is expected that other methods will reveal different absolute values, but the trend should be similar to the results presented herein.

## CONCLUSIONS

The results of this EMG-based study reveal that no statistically significant difference in signal, baseline noise, or SNR could be detected when comparing the facial muscle activity of younger vs older individuals. Distinct changes in the zygomaticus major, procerus, and corrugator supercilii muscles were confirmed by clinical observations, in line with previously published experimental studies, but the data should be understood within the limitations of this investigation. Future studies need to reproduce and to expand on the results presented herein to increase our understanding of facial muscle aging.

## Disclosures

The authors declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and publication of this article.

## Funding

This study was financially supported by a grant from Merz North America Inc. (Raleigh, NC) under grant number 2262019.

## REFERENCES

- Cotofana S, Gotkin RH, Ascher B, et al. Calvarial volume loss and facial aging: a computed tomographic (CT)-based study. *Aesthet Surg J*. 2018;38(10):1043-1051.
- Cotofana S, Gotkin RH, Morozov SP, et al. The relationship between bone remodeling and the clockwise rotation of the facial skeleton—a computed tomography imaging based evaluation. *Plast Reconstr Surg*. 2018;42(6):1447-1454.
- Frank K, Gotkin RH, Pavicic T, et al. Age and gender differences of the frontal bone: a computed tomographic (CT)-based study. *Aesthet Surg J*. 2018;39(7):699-710.
- Pessa JE. An algorithm of facial aging: verification of Lambros's theory by three-dimensional stereolithography, with reference to the pathogenesis of midfacial aging, scleral show, and the lateral suborbital trough deformity. *Plast Reconstr Surg*. 2000;106(2):479-488.
- Cotofana S, Mian A, Sykes JM, et al. An update on the anatomy of the forehead compartments. *Plast Reconstr Surg*. 2017;139(4):864e-872e.
- Schenck TL, Koban KC, Schlattau A, et al. Updated anatomy of the buccal space and its implications for plastic, reconstructive and aesthetic procedures. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2018;71(2):162-170.
- Cotofana S, Fratila AA, Schenck TL, Redka-Swoboda W, Zilinsky I, Pavicic T. The anatomy of the aging face: a review. *Facial Plast Surg*. 2016;32(3):253-260.
- Cotofana S, Gotkin RH, Frank K, et al. The functional anatomy of the deep facial fat compartments: a detailed imaging-based investigation. *Plast Reconstr Surg*. 2019;143(1):53-63.
- Schenck TL, Koban KC, Schlattau A, et al. The functional anatomy of the superficial fat compartments of the face: a detailed imaging study. *Plast Reconstr Surg*. 2018;141(6):1351-1359.
- Casabona G, Bernardini FP, Skippen B, et al. How to best utilize the line of ligaments and the surface volume coefficient in facial soft tissue filler injections. *J Cosmet Dermatol*. 2020;19(2):303-311.
- Frank K, Koban K, Targosinski S, et al. The anatomy behind adverse events in hand volumizing procedures: retrospective evaluations of 11 years of experience. *Plast Reconstr Surg*. 2018;141(5):650e-662e.
- Cotofana S, Gaete A, Hernandez CA, et al. The six different injection techniques for the temple relevant for soft tissue filler augmentation procedures—clinical anatomy and danger zones. *J Cosmet Dermatol*. 2020;19(7):1570-1579.
- Casabona G, Frank K, Moellhoff N, et al. Full-face effects of temporal volumizing and temporal lifting techniques. *J Cosmet Dermatol*. 2020;19(11):2830-2837.
- Cotofana S, Schenck TL, Trevidic P, et al. Midface: clinical anatomy and regional approaches with injectable fillers. *Plast Reconstr Surg*. 2015;136(5 Suppl):219S-234S.
- Sykes JM, Cotofana S, Trevidic P, et al. Upper face: clinical anatomy and regional approaches with injectable fillers. *Plast Reconstr Surg*. 2015;136(5 Suppl):204S-218S.
- Braz A, Humphrey S, Weinkle S, et al. Lower face: clinical anatomy and regional approaches with injectable fillers. *Plast Reconstr Surg*. 2015;136(5 Suppl):235S-257S.

17. Kahn DM, Shaw RB Jr. Aging of the bony orbit: a three-dimensional computed tomographic study. *Aesthet Surg J*. 2008;28(3):258-264.
18. Yi HS. Morphology of the aging forehead: a three-dimensional computed tomographic study. *Arch Craniofac Surg*. 2015;16(2):58-62.
19. Frank K, Gotkin RH, Pavicic T, et al. Age and gender differences of the frontal bone: a computed tomographic (CT)-based study. *Aesthet Surg J*. 2019;39(7):699-710.
20. Casabona G, Frank K, Koban KC, et al. Influence of age, sex, and body mass index on the depth of the superficial fascia in the face and neck. *Dermatol Surg*. 2019;45(11):1365-1373.
21. Krutmann J, Boulouc A, Sore G, Bernard BA, Passeron T. The skin aging exposome. *J Dermatol Sci*. 2017;85(3):152-161.
22. Le Louarn C, Buthiau D, Buis J. Structural aging: the facial recurve concept. *Aesthetic Plast Surg*. 2007;31(3):213-218.
23. World Medical Association. *WMA Declaration of Helsinki—Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects*. Helsinki: WMA; 1964.
24. Frank K, Moellhoff N, Giunta R, et al. Signal-to-noise ratio calculations to validate sensor positioning for facial muscle assessment using non-invasive facial electromyography. *Facial Plast Surg*. 2021. doi: [10.1055/s-0041-1725168](https://doi.org/10.1055/s-0041-1725168) [Epub ahead of print].
25. Flynn TC. Botoxin men. *Dermatol Ther*. 2007;20(6):407-413.
26. Cotofana S, Lowry N, Devineni A, et al. Can smiling influence the blood flow in the facial vein?—An experimental study. *J Cosmet Dermatol*. 2020;19(2):321-327.
27. Gombolevskiy VA, Gelezhe P, Morozov S, et al. The course of the angular artery in the midface: implications for surgical and minimally invasive procedures. *Aesthet Surg J*. 2021;41(7):805-813.
28. Welvaert M, Rosseel Y. On the definition of signal-to-noise ratio and contrast-to-noise ratio for fMRI data. *PLoS One*. 2013;8(11):e77089.

# AESTHETIC SURGERY JOURNAL

## OPEN FORUM

// For many years, *ASJ* has been my go-to journal for aesthetic plastic surgery. *ASJ* Open Forum is another evolution from the team combining open-access, high-quality articles and the ability to incorporate more video and clinical articles along with a very timely review process. This allows *ASJ* Open Forum to adapt, innovate, and advance aesthetic plastic surgery to reach beyond what the traditional medical journal format can do, particularly in the online world. Open access articles can also reach a huge global plastic surgery community far more readily than subscriptions-only articles. This is a great resource for plastic surgery education and patient care now and in the future. I am very excited and privileged to join *ASJ* Open Forum as a Contributing Editor and am very much looking forward to seeing it grow and develop even more. //

Nora Nugent FRCSI (Plast)

[@ASJIntl](https://twitter.com/ASJIntl)
[f Aesthetic Surgery Journal](https://www.facebook.com/AestheticSurgeryJournal)
[in Aesthetic Surgery Journal](https://www.linkedin.com/company/AestheticSurgeryJournal)
[@aestheticsurgeryjournal\\_asj](https://www.instagram.com/aestheticsurgeryjournal_asj)

[academic.oup.com/asjopenforum](https://academic.oup.com/asjopenforum)



Follow Dr. Nugent  
[@noranugent](https://www.instagram.com/noranugent)

OXFORD  
UNIVERSITY PRESS

## **Publikation 2: Electrophysiologic Frontalis Muscle Response Following Neuromodulator Injections**

### **English-Abstract**

*Background:* The objective of this study was to examine the effects of neuromodulator treatments on the frontalis muscle and the associated forehead skin movement. By using surface-derived non-invasive electromyography (sEMG), the activity of the frontalis muscle was analyzed and the movement of the forehead skin was measured. The displacement of the skin vector was calculated from 3D surface imaging. The aim was to better understand the impact of neuromodulator treatments on the frontalis muscle and the appearance of forehead lines.

*Material&Methods:* The study used surface-derived non-invasive electromyography (sEMG) and 3D surface imaging to measure frontalis muscle activity and skin displacement after BTX injections. The study included 11 healthy volunteers with a mean age of 26.64 years and a mean BMI of 22.28 kg/m<sup>2</sup>.

*Results:* The results of this study showed that there is a positive correlation between the signal to noise ratio (SNR) of the frontalis muscle and the vertical skin displacement. This relationship was found to be statistically significant ( $p < 0.001$ ) and remained significant even after stratifying by gender. The study also found that a decrease in frontalis muscle activity by 20% after the injection of 25 units of Incobotulinumtoxin results in a clinically relevant reduction in forehead line severity. The study concluded that at least a 33% reduction in the motor unit action potential (MUAP) of the frontalis muscle is needed to induce a statistically significant reduction in the objectively measured forehead skin movement.

*Conclusion:* These novel findings contribute to a better understanding of the effects of neuromodulators on the frontalis muscle.

## Deutsch-Abstract

*Hintergrund:* Neuromodulator-Behandlungen schränken die Kontraktilität des M. frontalis ein, was zu einer reduzierten dynamischen und statischen horizontalen Stirnfaltenbildung der darüber liegenden Haut führt.

*Zielsetzung:* Zur Analyse der Aktivität des M. frontalis wurde die nicht-invasive Oberflächenelektromyographie (sEMG) eingesetzt, um die Bewegung der Stirnhaut zu messen. Die Hautvektorverschiebung wurde aus der 3D-Oberflächenbildgebung abgeleitet.

*Material&Methoden:* Diese Studie untersuchte die elektrophysiologische Reaktion (über das Signal-Noise-Ratio) und die darüber liegende Hautverschiebung des M. frontalis nach Neuromodulator-Injektionen bei insgesamt 11 gesunden, Neuromodulator-naiven Freiwilligen (5 Männer, 6 Frauen) mit einem Durchschnittsalter von 26,64 (2,0) Jahren und einem durchschnittlichen BMI von 22,28 (2,0) kg/m<sup>2</sup>.

*Ergebnisse:* Die Relation zwischen dem Signal-Noise-Ratio (SNR) und der jeweiligen Hautbewegung ergab, dass die Hautverschiebung umso vertikaler ist, je höher das SNR ist:  $r_p = 0,406$  mit  $p < 0,001$ ; dies blieb auch nach der Geschlechterschichtung statistisch relevant. Unsere Ergebnisse zeigten auch, dass eine Verringerung der Frontalis-Muskelaktivität um 20% bei der Anwendung von 25 I.E. Incobotulinumtoxin zu einer klinisch relevanten Verringerung des Schweregrads der Stirnfalten führt. Eine Verringerung des Aktionspotenzials der Frontalis-Muskelmotoreinheit (MUAP) um mindestens 33% ist erforderlich, um eine statistisch relevante Verringerung der objektiv gemessenen Stirnhautbewegung zu bewirken.

*Schlussfolgerung:* Diese neuen Erkenntnisse tragen zu einem besseren Verständnis der Auswirkungen von Neuromodulatoren auf den M. frontalis zu entwickeln bei.

# Electrophysiologic Frontalis Muscle Response Following Neuromodulator Injections



Konstantin Frank, MD<sup>a,1</sup>, Shirin Assemi-Kabir, DDS<sup>a,1</sup>, Michael G. Alfertshofer<sup>a</sup>, Denis Ehl, MD, PhD<sup>a</sup>, Robert H. Gotkin, MD, FACS<sup>b</sup>, Nicholas Moellhoff, MD<sup>a</sup>, Paul Z. Lorenc, MD<sup>b</sup>, Tatjana Pavicic, MD<sup>c</sup>, Claudia A. Hernandez, MD<sup>d</sup>, Sebastian Cotofana, MD, PhD<sup>e,\*</sup>

## KEYWORDS

- Neuromodulators • Facial muscles • Surface electromyography • Motor-unit action potential
- Facial anatomy

## KEY POINTS

- This study investigated, for the first time in literature, the relationship between the underlying frontalis muscle activity and overlying forehead skin movement by using sEMG and skin vector displacement analyses.
- Results revealed that a decrease in frontalis muscle MUAP using 25 IU of Incobotulinumtoxin by 20% results in a clinically relevant reduction of forehead line severity. A 33% reduction in frontalis muscle MUAP is required to induce a statistically relevant reduction in objectively measured forehead skin movement.

## INTRODUCTION

According to the annual statistics conducted by The Aesthetic Society in 2020, a total of 2,643,366 neuromodulator injections were performed in the United States; this generated a revenue of more than 1 billion USD.<sup>1</sup> Most of these procedures involved treatment of the upper face, as it has been shown that the gaze pattern, as well as the focus of attention, shifted toward the upper face owing to face-covering guidelines in

times of the pandemic.<sup>2</sup> Upper face neuromodulator injections typically treat the periorbital muscles for lateral canthal lines,<sup>3,4</sup> glabellar muscles for glabellar lines,<sup>5</sup> and the frontalis muscle for horizontal forehead lines.<sup>6–8</sup>

The administered neuromodulator induces a temporary paresis/paralysis of the targeted muscle, which decreases the muscle's ability to contract. The limited contractility of the muscle results in reduced dynamic and static wrinkle

K.F., S.A.-K., M.A., N.M., C.H. and S.C. performed the research. S.C., P.Z.L., T.P., and D.E. designed the research study. R.H.G. and S.C. contributed essential reagents or tools. S.C., S.A.-K., and K.F. analyzed the data. S.C., S.A.-K., and K.F. wrote the paper.

**Funding:** This study was financially supported by a grant from Merz North America Inc under the grant number 2262019.

<sup>a</sup> Department for Hand, Plastic and Aesthetic Surgery, Ludwig-Maximilian University Munich, Germany;

<sup>b</sup> Private Practice, New York, NY, USA; <sup>c</sup> Private Practice, Munich, Germany; <sup>d</sup> CH Dermatologia, Medellin, Colombia; <sup>e</sup> Department of Clinical Anatomy, Mayo Clinic College of Medicine and Science, Mayo Clinic, Stabile Building 9-38, 200 First Street, Rochester, MN 55905, USA

<sup>1</sup> Authors contributed equally.

\* Corresponding author. Department of Clinical Anatomy, Mayo Clinic College of Medicine and Science, Mayo Clinic, Stabile Building 9-38, 200 First Street, Rochester, MN 55905.

*E-mail address:* cotofana.sebastian@mayo.edu

Facial Plast Surg Clin N Am 30 (2022) 225–231

<https://doi.org/10.1016/j.fsc.2022.01.010>

1064-7406/22/© 2022 Elsevier Inc. All rights reserved.

formation of the overlying skin; this is the desired effect of the treatment.

The formation of wrinkles, such as horizontal forehead lines, requires a direct connection between the underlying muscle and the overlying skin. This mandates a network of stable connective tissue adhesions allowing the transmission of muscular contractions to the subdermal interface. This transmission is facilitated in the forehead by the suprafrontalis fascia<sup>9,10</sup> and its subdermal fibrous architecture,<sup>11</sup> which is comparable to the midfacial SMAS (superficial musculo-aponeurotic system).<sup>12</sup> However, with increased skin laxity and/or increased thickness of subcutaneous fat, a direct force transmission can be altered and, despite proper muscular contractions, the overlying skin might not move correspondingly to the contractions of the underlying frontalis muscle. It could also be speculated that a certain degree of muscular movement is necessary to effect movement of the overlying skin; this is of clinical relevance during neuromodulator treatments.

To investigate the influence of frontalis muscle activity on forehead skin movement, this experimental study was designed. To analyze frontalis muscle activity, surface-derived noninvasive electromyography (sEMG) was used, and to measure forehead skin movement, skin vector displacement was derived from surface 3-dimensional (3D) imaging. No study to date combined these 2 methods to evaluate the relationship between muscle contraction and overlying skin movement. It is hoped that this investigation will provide greater clarity on the effects of neuromodulator treatments and will ultimately help to increase efficacy for aesthetic patients seeking neuromodulator injections.

## MATERIALS AND METHODS

### Study Sample

This interventional study investigated the electrophysiologic response of the frontalis muscle following neuromodulator injections in a total of 11 healthy neuromodulator-naïve volunteers (5 men, 6 women). Study participants were consecutive patients recruited by the Department for Hand, Plastic and Aesthetic Surgery, Ludwig-Maximilian University, Munich, Germany with a mean age of 26.64 (2.0) years (range: 24–30), and a mean body mass index (BMI) of 22.28 (2.0) kg/m<sup>2</sup> (range: 19.0–25.6). Patients were eligible for this study if they had no previous neuromodulator treatments to their forehead or periorbital region and had no previous facial trauma or surgery that could potentially disrupt the integrity of their upper facial anatomy or normal frontalis muscle function.

Written informed consent was obtained from all participants before inclusion in the study for the use of their images and personal data for research purposes. This study was performed in adherence to the Declaration of Helsinki (1996)<sup>13</sup> and received institutional review board approval from REDACTED under the approval number: REDACTED.

### Injection Procedure

Study participants were treated for their horizontal forehead lines at the beginning of the study. The following injection pattern was used: a total of 10 injection locations, 2.5 IU each, 5 of which were administered in the upper row located above the line of convergence,<sup>5</sup> and 5 of which were administered in the lower row, that is, below the line of convergence (Fig. 1). A total of 25 IU of Incobotulinumtoxin type A (Xeomin, Bocouture; Merz Pharmaceuticals GmbH, Frankfurt am Main, Germany) were administered to each study participant (see Fig. 1).

### Measurements Conducted

#### Forehead line severity

Forehead line severity was assessed via a validated 5-point scale (grade 0 = no lines; grade 1 = mild lines; grade 2 = moderate lines; grade 3 = severe lines; grade 4 = very severe lines).<sup>14</sup> Assessment was conducted by an independent observer based on 3D images at rest and during maximal frontalis muscle contraction for each follow-up visit.

#### Surface-derived noninvasive electromyography

sEMG measurements were conducted consistently and for all study participants following a previously published protocol.<sup>15,16</sup> In brief, 2 noninvasive, surface adherent, wireless sensors were positioned on the forehead of each study participant located 2 cm cranial to the upper margin of the hairy eyebrow in the left and right vertical midpupillary lines.

Study participants were asked to maximally contract their frontalis muscle and elevate their brows 3 times in a row, and the sEMG sensors detected the motor unit action potential (MUAP) of the underlying frontalis muscle for each movement and transmitted the information to the sEMG receiver box (Avanti Trigno Quattro; Delsys Inc, Natick, MA, USA) as described previously.<sup>15,16</sup> The detected MUAP was imported into the proprietary software (EMGworks; Delsys Inc) and analyzed for the variables of interest.

#### Three-dimensional surface scanning

The skin surface of the forehead of each study participant was captured at rest and during

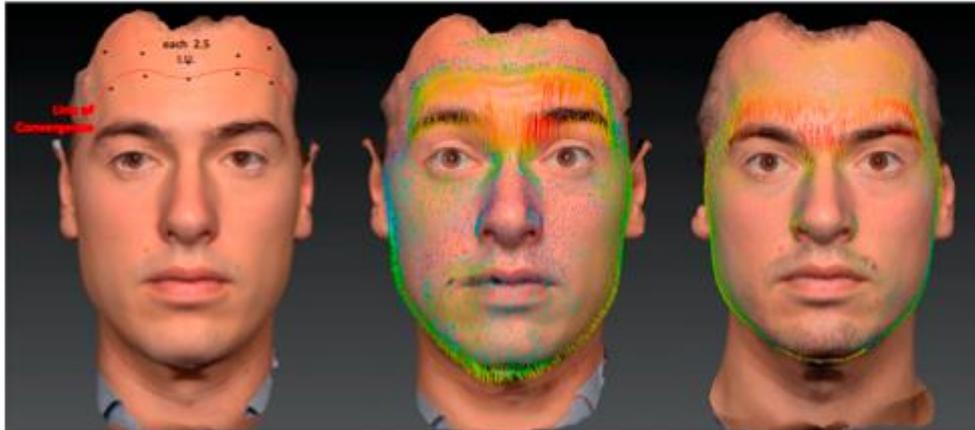


Fig. 1. Injection points in relation to the line of convergence exemplified on a male 26-year-old study participant. Each injection point administered 2.5 IU of Incobotulinumtoxin type A for a total dosage of 25 IU per study participant. (left) 3D image of a 26-year-old male study participant showing skin vector displacement during maximal frontalis muscle contraction at baseline (middle) and 4 days after the injection procedure (right).

maximal frontalis muscle contraction via a 3D camera (Vectra H2, Canfield Scientific Inc, Fairfield, NJ, USA). Differences in skin position between maximal brow elevation and at rest were analyzed using skin vector displacement analysis via the automated algorithm of the Vectra Software Suite as described previously.<sup>17</sup> All measurements were conducted by the same investigator (S.A.-K.) to assure consistency throughout the analyses (see Fig. 1).

#### Analytical Procedure

The variables of interest were the mean value of the 3 performed frontalis muscle contractions calculated as the root-mean-square of the maximal muscle contraction (the signal, in  $\mu\text{V}$ ) and the root-mean-square of the respective muscle activity at rest (the baseline noise, in  $\mu\text{V}$ ). The signal-to-noise ratio (SNR) was calculated by using the 20 log function of the ratio between the signal divided by the baseline noise according to the manufacturer's guideline as described previously.<sup>18</sup> The mean values of the left and the right frontalis muscle MUAP were averaged and used for further statistical analyses without side-difference comparisons.

3D skin surface imaging measured the displacement of the forehead skin in a vertical direction comparable to the movement along the y-axis in a Cartesian coordinate system. Values are given in millimeters and represent the difference in skin movement between the resting and maximally contracted forehead skin.

All measurements were conducted before the neuromodulator injections and repeated at days

1, 2, 3, 4, 5, 7, and 14 and at 1, 2, and 4 months following the initial injection procedure.

Differences between genders were calculated using nonparametric Mann-Whitney *U* test, and differences between follow-up time points were calculated using Kruskal-Wallis test. All calculations were performed with IBM SPSS Version 27 (IBM Corp, Armonk, NY, USA), and results were considered statistically significant at a probability level of  $P \leq .05$ .

## RESULTS

### General Description

Of the 11 study participants, 100% completed the follow-up period. Men were identified to have an overall statistically significant increase in SNR compared with women with 7.32 (2.3) versus 6.06 (2.6) ( $P = .005$ ), and men were also identified to have an overall greater vertical movement of their forehead skin compared with women with 7.23 (2.4) mm versus 4.82 (1.7) mm ( $P < .001$ ).

Relating the SNR to the respective skin movement, it was revealed that the higher the SNR, the more vertical skin displacement was observed:  $r_p = .406$  with  $P < .001$ , which remained statistically relevant even after gender stratification.

### Forehead Line Severity

The median forehead line severity score during maximal frontalis muscle contraction at baseline was 2 (0–4, best to worst) with an interquartile range of 2. At day 2, a statistically significant decrease in forehead line severity was observed to a median score of 1 (2) with  $P = .047$ , and this

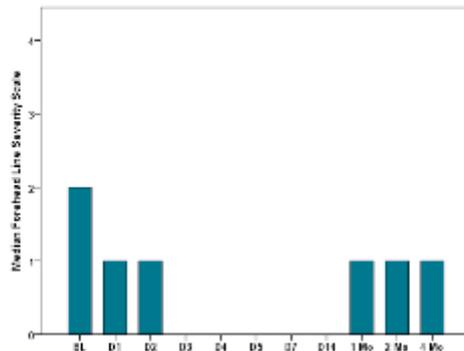


Fig. 2. The median forehead line severity scale (grade 0 = no lines; grade 1 = mild lines; grade 2 = moderate lines; grade 3 = severe lines; grade 4 = very severe lines)<sup>14</sup> evaluated during maximal frontalis muscle contraction at baseline and at each follow-up visit.

was maintained until 1 month after the initial treatment. At 2 months following the initial injection, forehead line severity revealed no statistically significant difference when compared with the baseline value (Fig. 2).

#### Surface-Derived Noninvasive Electromyography

The average SNR at baseline (independent of gender) was 8.45 (3.8) and decreased following the neuromodulator injection across all time points with  $P = .003$ . The maximal decrease in SNR was observed at 14 days following the treatment with 4.43 and  $P = .028$ , indicating a decrease of 47.6% when compared with the baseline value (Fig. 3).

#### Three-Dimensional Surface Scanning

The average vertical skin displacement at baseline (independent of gender) was 7.45 (1.9) mm and

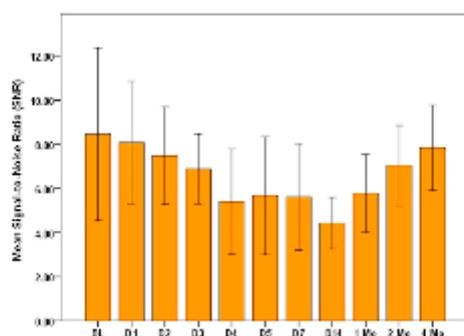


Fig. 3. The mean SNR at each follow-up visit. Error bars indicate  $\pm$  standard deviation.

decreased at 4 days following the injection to a statistically significant level with 5.43 (2.7) mm and  $P = .034$ ; this indicates a reduction of 27.1% when compared with baseline. This decrease was maintained until 1 month following the treatment and increased in the measurements conducted afterward (Figs. 4 and 5).

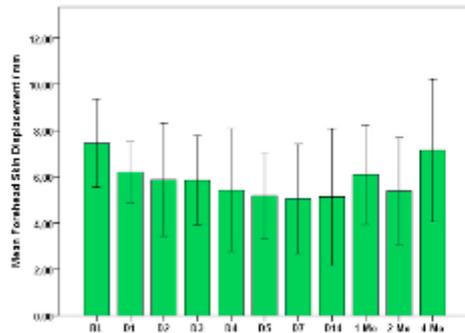
#### DISCUSSION

This study investigated, for the first time in the literature, the relationship between underlying frontalis muscle activity and overlying forehead skin movement by using sEMG and skin vector displacement analyses. Using both modalities in a combined study protocol enables one to draw conclusions about the frontalis muscle activity required to move the overlying skin and, in addition, to monitor the direct effect of neuromodulator injections. The decision to include both modalities into 1 study design is based on the biomechanical concept that underlies skin wrinkle formation. The underlying muscle has a certain degree of contractility, which is transmitted to the overlying skin. This force transmission between the muscle and overlying skin is facilitated by a system of connective tissue fibers and fasciae; in the forehead, this is the suprafrontalis fascia<sup>9,10</sup> and its respective subdermal fibrous architecture.<sup>11</sup> This system, however, is also a weak point during force transmission because alterations to this link can influence the movement of the overlying skin and mask the underlying muscle activity. Therefore, the movement of skin and the respective formation of wrinkles are a reflection of an intact connective tissue apparatus and muscle contractility.

This concept influenced patient selection because only healthy, young, and toxin-naïve participants were selected with a mean age of 26.64 (2.0) years (range: 24–30) and a mean BMI of 22.28 (2.0) kg/m<sup>2</sup> (range: 19.0–25.6). This assured that no age-related laxity of the skin or the connective tissue apparatus or weight-related influence on the subdermal fatty layer thickness would influence the force transmission between muscle and skin.

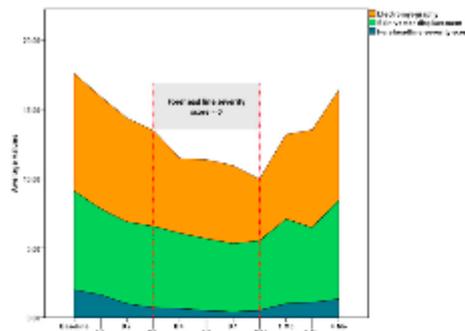
The results of the analyses revealed that neuromodulator injections were effective in reducing forehead line severity starting at day 2 following the treatment and extending until the end of the study observational period. A longer follow-up period would have been able to capture the total duration of the treatment, and future studies will need to address this limitation.

Analyzing the movement of forehead skin with skin vector displacement analyses revealed that the administration of 25 IU of Incobotulinumtoxin



**Fig. 4.** The mean vertical skin vector displacement at each follow-up visit. Error bars indicate  $\pm$  standard deviation.

type A to each study participant with a similar injection technique resulted in a maximal decrease of forehead skin movement by 32.2% when compared with the movement amplitude before the treatment. The reduction in movement reached a statistically relevant level between day 4 and day 14 of the follow-up period only and returned to almost pretreatment values toward the end of the observational period. Interestingly, at no point in the follow-up period was the movement of the forehead absent, blocked, or comparable to a "frozen forehead," owing to the injection technique and dosage used. It can be assumed that a higher neuromodulator dose or more injection points would have resulted in a greater reduction of forehead skin movement. However, this clinical study used recently suggested injection points respecting the line of convergence<sup>6</sup> and the administration of the product into the deep plane<sup>8</sup>; this has the aim of wrinkle reduction without affecting eyebrow position or being at risk to cause



**Fig. 5.** The relation between values obtained via measurements from electromyography, skin vector displacement, and semiquantitative scoring of forehead line severity during maximal frontalis muscle contraction. Note that the clinically visible effect is ranging between day 3 and 1 month.

lateral hyperlevation ("Spock eyebrow"), or upper eyelid ptosis.

The administration of neuromodulators resulted in the reduction of the MUAP, measured by the SNR, which reached its maximum 14 days following the treatment; this was observed in both men and women. Again, and comparable to the forehead skin movement analyses, the treatment did not eliminate all MUAP. This can possibly be explained by the number of units used and the injection technique used. Future studies will need to address this limitation and expand on the methodology presented herein.

One of the most important findings of this study is the sequence of the detected neuromodulator effects: reduction in semiquantitatively assessed forehead line severity starting at day 3, reduction in objectively assessed forehead skin movement starting at day 4, and reduction in frontalis muscle MUAP having its maximum at day 14 (see Fig. 5). This sequence provides a good reflection on the methodology applied. The semiquantitative scoring evaluates the formation of wrinkles and their severity, but the authors' results show that, despite reducing wrinkle severity to a clinically relevant level, skin mobility was still present. This is plausible when analyzing on the biomechanics of wrinkle formation in which a certain degree of skin movement is necessary to approach dermal adhesion points enough to form a bulging between them. Starting at day 3 following the treatment, a reduction of 21.3% in skin movement was sufficient to reduce the forehead line severity from score 2 to 0. This was consistent with the observation at the 1-month follow-up, where skin movement increased again to 18.3%, which resulted in a concomitant increase of forehead line severity from a score of 0 to 1. At day 3, the sEMG revealed that SNR was reduced by 18.6% (compared with baseline), but clinically the forehead line severity reached a score of 0. This indicates that the magnitude in frontalis muscle MUAP reduction is sufficient to achieve a wrinkle severity score of 0 and, therefore, a clinically visible change.

To achieve a statistically significant reduction in objectively assessed forehead skin movement, as observed between day 4 and 14, a reduction of frontalis muscle MUAP of 32.9% or higher is needed. This is novel and interesting, as the authors' results indicate that there is still muscle activity present despite not being reflected on the skin surface. Based on these results, it can be hypothesized that a reduction of up to approximately 30% in SNR of the frontalis muscle's MUAP can be present and still have sufficient contractility to move the overlying skin on a detectable level. Moreover, a reduction of approximately 20% or

more can result in a clinically meaningful reduction (here: from score 2–0) in forehead line severity.

This study is not free of limitations. It must be emphasized that the sEMG and the skin vector displacement measurements are summative measurements and include larger areas than only the area where the toxin was administered. For the sEMG measurements, only 1 sensor was used per forehead side, and it can be speculated that the other parts of the frontalis muscle (lower or lateral frontalis) still generate a sufficient signal to alter the locally captured MUAP. For the displacement measures, the measured area was located between the hairline and the upper margin of the eyebrows. As the injection technique was designed to not significantly affect the lower forehead, a certain degree of movement can be expected from this area and thus to influence the summative skin vector analysis. Another limitation of this study is the small sample size. A larger sample would have strengthened the observations, but because of the intense follow-up schedule required, a limited number of volunteers was available. Future studies will need to address this limitation and additionally include other neuromodulators to test their effects on frontalis muscle activity.

#### SUMMARY

This study investigated, for the first time in literature, the relationship between the underlying frontalis muscle activity and overlying forehead skin movement by using sEMG and skin vector displacement analyses. The results revealed that a decrease in frontalis muscle MUAP using 25 IU of Incobotulinumtoxin by 20% results in a clinically relevant reduction of forehead line severity. At least a 33% reduction in frontalis muscle MUAP is required to induce a statistically relevant reduction in objectively measured forehead skin movement. These results are novel and will help the aesthetic community to better understand neuromodulator effects on the frontalis muscle.

#### CLINICS CARE POINTS

- Surface Electromyography (sEMG) is a novel technique to evaluate the effect of neurotoxins on the neuromuscular activity of the frontalis muscle.
- The MUAP of the frontalis muscle should be reduced by a third to see a relevant reduction in objectively measured forehead skin movement.

#### DISCLOSURE

The authors declare no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and publication of this article.

#### REFERENCES

1. The American Society for Aesthetic Plastic Surgery. Cosmetic (Aesthetic) Surgery National Data Bank Statistics. 2020. Available at: [https://www.surgery.org/sites/default/files/ASAPS-Stats2020\\_0.pdf](https://www.surgery.org/sites/default/files/ASAPS-Stats2020_0.pdf). Accessed May 17th, 2021.
2. Frank K, Schuster L, Alfertshofer M, et al. How does wearing a facecover influence the eye movement pattern in times of COVID-19? *Aesthet Surg J* 2021. <https://doi.org/10.1093/asj/sjab121>.
3. Kane MAC. Classification of crow's feet patterns among Caucasian women: the key to individualizing treatment. *Plast Reconstr Surg* 2003;112(5 Suppl): 33S–9S.
4. Brin MF, Boodhoo TI, Pogoda JM, et al. Safety and tolerability of onabotulinumtoxinA in the treatment of facial lines: a meta-analysis of individual patient data from global clinical registration studies in 1678 participants. *J Am Acad Dermatol* 2009;61(6). <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2009.06.040>.
5. Cotofana S, Pedraza AP, Kaufman J, et al. Respecting upper facial anatomy for treating the glabella with neuromodulators to avoid medial brow ptosis—a refined 3-point injection technique. *J Cosmet Dermatol* 2021. <https://doi.org/10.1111/jocd.14133>.
6. Cotofana S, Freytag DL, Frank K, et al. The bidirectional movement of the frontalis muscle - introducing the line of convergence and its potential clinical relevance. *Plast Reconstr Surg* 2020;145(5): 1155–62.
7. Frank K, Freytag DL, Schenck TL, et al. Relationship between forehead motion and the shape of forehead lines—a 3D skin displacement vector analysis. *J Cosmet Dermatol* 2019;18(5):1224–9.
8. Davidovic K, Melnikov DV, Frank K, et al. To click or not to click – the importance of understanding the layers of the forehead when injecting neuromodulators – a clinical, prospective, interventional, split-face study. *J Cosmet Dermatol* 2020. <https://doi.org/10.1111/jocd.13875>.
9. Cotofana S, Velthuis PJ, Alfertshofer M, et al. The change of plane of the supratrochlear and supraorbital arteries in the forehead—an ultrasound-based investigation. *Aesthet Surg J* 2021. <https://doi.org/10.1093/asj/sjaa421>.
10. Knize DM. An anatomically based study of the mechanism of eyebrow ptosis. *Plast Reconstr Surg* 1996;97(7):1321–33.

11. Sandulescu T, Franzmann M, Jast J, et al. Facial fold and crease development: a new morphological approach and classification. *Clin Anat* 2019;32(4): 573–84.
12. Sandulescu T, Weniger J, Philippou S, et al. Immunohistochemical evidence of striated muscle cells within midfacial superficial musculoaponeurotic system. *Ann Anat* 2021;234. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2020.151647>.
13. WMA Declaration of Helsinki – ethical principles for medical research involving human subjects – WMA – the World Medical Association. Available at: <https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/>. Accessed August 5, 2018.
14. Flynn TC, Carruthers A, Carruthers J, et al. Validated assessment scales for the upper face. *Dermatol Surg* 2012;38(2pt11):309–19.
15. Frank K, Möllhoff N, Kaiser A, et al. Optimal positioning of EMG - electrodes in facial muscle assessment. *Plast Reconstr Surg* 2020.
16. Cotofana S, Assemi-Kabir S, Mardini S, et al. Understanding facial muscle aging: a surface electromyography study. *Aesthet Surg J* 2021. <https://doi.org/10.1093/asj/sjab202>.
17. Haidar R, Freytag MDDL, Frank K, et al. Quantitative analysis of the lifting effect of facial soft-tissue filler injections. *Plast Reconstr Surg* 2021;147(5): 765e–76e.
18. Frank K, Moellhoff N, Giunta R, et al. Signal-to-noise ratio calculations to validate sensor positioning for facial muscle assessment using non-invasive facial electromyography. *Facial Plast Surg* 2021;37(5): 614–24.

## Literaturverzeichnis

1. Liao D, Ishii LE, Chen J, Chen LW, Kumar A, Papel ID, et al. How Old Do I Look? Exploring the Facial Cues of Age in a Tasked Eye-Tracking Study. *Facial Plast Surg Aesthetic Med.* 2020;22(1):36–41.
2. Kwart DG, Foulsham T, Kingstone A. Age and beauty are in the eye of the beholder. *Perception.* 2012;41(8):925–38.
3. Nguyen HT, Isaacowitz DM, Rubin PAD. Age- and Fatigue-related Markers of Human Faces: An Eye-Tracking Study. *Ophthalmology* [Internet]. 2009;116(2):355–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ophtha.2008.10.007>
4. Geng X, Zhou ZH, Smith-Miles K. Automatic age estimation based on facial aging patterns. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell.* 2007;29(12):2234–40.
5. Farkas JP, Pessa JE, Hubbard B, Rohrich RJ. The science and theory behind facial aging. *Plast Reconstr Surg - Glob Open.* 2013;1(1):1–8.
6. Fitzgerald R, Graivier MH, Kane M, Lorenc ZP, Vleggaar D, Werschler WP, et al. Update on facial aging. *Aesthet Surg J.* 2010;30 Suppl.
7. Gonzalez-Ulloa M, Flores ES. Senility of the Face. *Plast Reconstr Surg.* 1965;36 No. 2:1–8.
8. Cotofana S. Das alternde Gesicht — eine anatomische Zusammenfassung. *Ästhetische Dermatologie & Kosmetologie.* 2018;10(3):20–2.
9. Alfertshofer MG, Cotofana S. Das alternde Gesicht. *Ästhetische Dermatologie & Kosmetologie.* 2021;13(4):32–9.
10. Cotofana S, Gotkin RH, Ascher B, Morozov SP, Gombolevsky VA, Laipan AS, et al. Calvarial Volume Loss and Facial Aging: A Computed Tomographic (CT)-Based Study. *Am Soc Aesthetic Plast Surg.* 2018;
11. Cotofana S, Fratila AAM, Schenck TL, Redka-Swoboda W, Zilinsky I, Pavicic T. The Anatomy of the Aging Face: A Review. *Facial Plast Surg.* 2016;32(3):253–60.
12. Cotofana S, Lachman N. Anatomy of the Facial Fat Compartments and their Relevance in Aesthetic Surgery. Vol. 17, *JDDG - Journal of the German Society of Dermatology.* 2019. p. 399–413.
13. Arnold WH, Sandulescu T. Funktionelle Morphologie der Gesichtshaut. *Der MKG-Chirurg.* 2019;12(4):198–205.
14. Kerscher M, Buntrock H. Altersbedingte Veränderungen der Hautphysiologie. 2017;(March).
15. Farage MA, Miller KW, Elsner P, Maibach HI. Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: A review. *Int J Cosmet Sci.* 2008;30(2):87–95.
16. Friedman O. Changes associated with the aging face. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2005;13(3):371–80.
17. Swift A, Liew S, Weinkle S, Garcia JK, Silberberg MB. The Facial Aging Process from the “inside Out.” *Aesthet Surg J.* 2021;41(10):1107–19.
18. Mendelson B, Wong CH. Changes in the Facial Skeleton With Aging: Implications and

- Clinical Applications in Facial Rejuvenation. *Aesthetic Plast Surg* [Internet]. 2020;44(4):1151–8. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00266-020-01823-x>
19. Kahn DM, Shaw RB. Overview of current thoughts on facial volume and aging. *Facial Plast Surg*. 2010;26(5):350–5.
  20. Gosain AK, Klein MH, Sudhakar P V., Prost RW. A volumetric analysis of soft-tissue changes in the aging midface using high-resolution MRI: Implications for facial rejuvenation. *Plast Reconstr Surg*. 2005;115(4):1143–52.
  21. Penna V, Stark GB, Eisenhardt SU, Bannasch H, Iblher N. The aging lip: A comparative histological analysis of age-related changes in the upper lip complex. *Plast Reconstr Surg*. 2009;124(2):624–8.
  22. Perkins NW, Smith SP, Williams EF. Perioral Rejuvenation: Complementary Techniques and Procedures. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 2007;15(4):423–32.
  23. Louarn C Le, Buthiau D, Buis J. Structural aging: The facial recurve concept. *Aesthetic Plast Surg*. 2007;31(3):213–8.
  24. Luu NN, Friedman O. Facelift Surgery: History, Anatomy, and Recent Innovations. *Facial Plast Surg*. 2021;37(5):556–63.
  25. Barrett DM, Casanueva FJ, Wang TD. Evolution of the rhytidectomy. *World J Otorhinolaryngol - Head Neck Surg* [Internet]. 2016;2(1):38–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wjorl.2015.12.001>
  26. Charafeddine AH, Drake R, McBride J, Zins JE. Facelift: History and Anatomy. *Clin Plast Surg*. 2019;46(4):505–13.
  27. Wan D, Small KH, Barton FE. Face lift. *Plast Reconstr Surg*. 2015;136(5):676e-689e.
  28. Kim BJ, Choi JH, Lee Y. Development of facial rejuvenation procedures: Thirty years of clinical experience with face lifts. *Arch Plast Surg*. 2015;42(5):521–31.
  29. Sundaram H, Signorini M, Liew S, Trindade De Almeida AR, Wu Y, Vieira Braz A, et al. 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;137(3):518e-529e.
  30. Society TA. Welfare Statistics 2019. 2019;1–26.
  31. Grüsser O-J. Die ersten systematischen Beschreibungen und tierexperimentellen Untersuchungen des Botulismus : Zum 200 . Geburtstag von Justinus Kerner am 18 . Sept . 1986 Author. Vol. 2, *Sudhoffs Archiv*. Franz Steiner Verlag Stable; 2016.
  32. van Ermengem E. Ueber einen neuen anaëroben Bacillus und seine Beziehungen zum Botulismus. *Zeitschrift für Hyg und Infect*. 1897;26(1):1–56.
  33. Leuchs J. Beiträge zur Kenntnis des Toxins und Antitoxins des Bacillus botulinus. *Zeitschrift für Hyg und Infekt*. 1910;65(1):55–84.
  34. Burken G. Notes on Bacillus botolinus. *J Bacteriol*. 1919;
  35. Sommer B, Sattler G. Botulinumtoxin in der ästhetischen Medizin. Blackwell Wissenschafts-Verlag Berlin - Wien; 2001. 1–81 p.
  36. Huang W, Foster JA, Rogachefsky AS. Pharmacology of botulinum toxin. *J Am Acad Dermatol*. 2000;43(2 I):249–59.
  37. Schantz EJ, Johnson EA. Botulinum toxin: the story of its development for the treatment

- of human disease. *Perspect Biol Med.* 1997;40(3):317–27.
38. Brooks BYVB, Brooks VB. FILAMENTS From the Department of Physiology , McGill University , neuromuscular block by specifically affecting peripheral parts of motor nerves . They put forward two main alternative hypotheses to account for this : either ' transmission of the nerve im. 1953;501–15.
  39. Scott AB, Collins CC, Rosenbaum A. Pharmacologic weakening of extraocular muscles. 1963;924–7.
  40. Scott AB. Botulinum toxin injection of eye muscles to correct strabismus. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1981;79(1):734–70.
  41. Lorenc ZP, Kenkel JM, Fagien S, Hirmand H, Nestor MS, Sclafani AP, et al. IncobotulinumtoxinA (Xeomin): background, mechanism of action, and manufacturing. *Aesthet Surg J.* 2013;33(1 Suppl).
  42. Birmingham J. Documentation: a guide for case managers. *Lippincotts Case Manag.* 2004;9(3):155–7.
  43. Ting PT, Freiman A. The story of Clostridium botulinum: From food poisoning to Botox. *Clin Med J R Coll Physicians London.* 2004;4(3):258–61.
  44. Prager W, Nogueira Teixeira D, Leventhal PS. IncobotulinumtoxinA for Aesthetic Indications: A Systematic Review of Prospective Comparative Trials. *Dermatologic Surg.* 2017;43(7):959–66.
  45. Heinen F, Brandt T, Ruzicka T. Botulinumtoxin in der Medizin. Vol. 153, *MMW - Fortschritte der Medizin.* Düsseldorf; 2011. 1–161 p.
  46. Liu MH, Beynet DP, Gharavi NM. Overview of Deep Dermal Fillers. Vol. 35, *Facial Plastic Surgery.* 2019. p. 224–9.
  47. Rogers BO. The development of aesthetic plastic surgery: A history. *Aesthetic Plast Surg.* 1976;1(1):3–24.
  48. Databank N. Aesthetic Plastic Surgery National Databank Statistics 2020. *Aesthetic Surg J.* 2021;41:1–16.
  49. Chiang YZ, Pierone G, Al-Niimi F. Dermal fillers: pathophysiology, prevention and treatment of complications. Vol. 31, *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* 2017. p. 405–13.
  50. Ballin AC, Brandt FS, Cazzaniga A. Dermal Fillers: An Update. Vol. 16, *American Journal of Clinical Dermatology.* Springer International Publishing; 2015. p. 271–83.
  51. Bacos JT, Dayan SH. Superficial Dermal Fillers with Hyaluronic Acid. *Facial Plast Surg.* 2019;35(3):219–23.
  52. Johl SS, Burgett RA. Dermal filler agents: A practical review. *Curr Opin Ophthalmol.* 2006;17(5):471–9.
  53. Buckingham ED. Poly-L-Lactic Acid Facial Rejuvenation. An Alternative to Autologous Fat? [Internet]. Vol. 21, *Facial Plastic Surgery Clinics of North America.* Elsevier Inc; 2013. p. 271–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsc.2013.02.007>
  54. Marinelli E, Montanari Vergallo G, Reale G, Di Luca A, Catarinozzi I, Napoletano S, et al. The role of fillers in aesthetic medicine: Medico-legal aspects. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016;20(22):4628–34.

55. Broder KW, Cohen SR. An overview of permanent and semipermanent fillers. Vol. 118, Plastic and Reconstructive Surgery. 2006. p. 7–14.
56. Sulamanidze M, Sulamanidze G, Vozdvizhenskiy I, Sulamanidze K, Kadzhay A. New Method of Face Elastic Thread Lift. Miniinvasive Face Body Lifts - Closed Suture Lifts or Barbed Thread Lifts. 2013;
57. Greiner D. Fadenlifting: Grenzen und Möglichkeiten. J für Ästhetische Chir. 2016;9(4):153–7.
58. Villa MT, White LE, Alam M, Yoo SS, Walton RL. Barbed sutures: A review of the literature. Plast Reconstr Surg. 2008;121(3):102–8.
59. Voigt H-U. Fadenlifting mit selbstauflösenden Fäden. Der Dtsch Dermatologe. 2016;64(7):510–1.

## Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei all den Menschen bedanken, die mich, während meiner Doktorarbeit unterstützt haben.

Zunächst möchte ich meinem Doktorvater Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Riccardo Giunta für die wertvolle Chance danken, meine Doktorarbeit unter seiner fachkundigen Betreuung durchführen zu können. Sie haben mir die Möglichkeit gegeben, mich wissenschaftlich weiterzuentwickeln und diese Forschungsergebnisse zu erzielen.

Ein besonderer Danke gilt auch meinem Betreuer Dr.med. Dr. med. univ. Konstantin Frank. Seine wertvollen Ratschläge, konstruktiven Kritiken und Ermutigungen waren von unschätzbarem Wert für den Erfolg meiner Arbeit.

Ich möchte mich außerdem herzlich bei Herrn Michael Alfertshofer für seine große Hilfsbereitschaft während dieser Zeit bedanken.

Ein großer Dank geht zu dem an meine Eltern, die mir stets mit Rat und Tat zur Seite standen. Euer Glauben an mich und meine Fähigkeiten hat mich immer wieder motiviert, weiterzumachen.

Schließlich möchte ich all den Probanden meiner Studien danken, die bereit waren, ihre Zeit und ihr Engagement zu investieren. Ohne Eure freiwillige Teilnahme wäre es nicht möglich gewesen, die Untersuchungen durchzuführen und die Ergebnisse dieser Arbeit zu erzielen. Danke für Euer Vertrauen.

-Kabir