

**UNIVERSIDADE BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA
CAMPUS ITAQUERA**

CARLA LÚCIA DE CAMARGO

**PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP) E SUA ASSOCIAÇÃO COM
OZONIOTERAPIA DE VOLUME CONTROLADO NO
REJUVENESCIMENTO FACIAL: ESTUDO PILOTO**

**SKIN REJUVENATION: USE OF PLATELET-RICH PLASMA (PRP) AND
ITS ASSOCIATION WITH VOLUME-CONTROLLED OZONIOTHERAPY**

São Paulo – SP
2023

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

CARLA LÚCIA DE CAMARGO

**REJUVENESCIMENTO DA PELE: USO DO PLASMA RICO EM
PLAQUETAS (PRP) E SUA ASSOCIAÇÃO COM OZONIOTERAPIA
DE VOLUME CONTROLADO**

Defesa de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Prof(a). Dr(a). Livia Assis
Orientador(a)

Prof(a). Dr(a). Carla Roberta Tim
Coorientador(a)

São Paulo – SP
2023

Ficha catalográfica

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil,
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

C176p

CAMARGO, Carla Lúcia de.

Plasma rico em plaquetas (PRP) e sua associação com Ozonioterapia de volume controlado no rejuvenescimento facial: estudo piloto / Carla Lúcia de Camargo -- São Paulo: Universidade Brasil, 2023.

71 f.: il. color.

Dissertação de Mestrado defendida no Programa de Pós-graduação do Curso de Engenharia Biomédica da Universidade Brasil.

Orientação: Profa. Dra. Lívia Assis Garcia.

1. Plasma rico em plaquetas. 2. Ozonioterapia. 3. Envelhecimento da pele. 4. Rejuvenescimento facial. 5. Rugas. I. Garcia, Lívia Assis. II. Título.

CDD 610.28

TERMO DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE
BRASIL

ATA DA APRESENTAÇÃO PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ATA PG Nº 823/2023

Aos 14 dias do mês março do ano de 2023, às 14:00 horas, reuniram-se os membros da Banca Examinadora composta pelos professores: Dr.(a) Lívia Assis Garcia (presidente-orientadora), Dr.(a) Ana Laura Martins de Andrade, Dr.(a) Cintia Cristina Santi Martignago, banca aprovada pelo Coordenador(a) do Mestrado em Engenharia Biomédica, da Universidade Brasil, a fim de argüirem o(a) mestrando (a) **CARLA LÚCIA DE CAMARGO (RA 21137324-6)** sobre sua dissertação, com o título "**PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP) E SUA ASSOCIAÇÃO COM OZONIOTERAPIA DE VOLUME CONTROLADO NO REJUVENESCIMENTO FACIAL: ESTUDO PILOTO**". Aberta a sessão pelo presidente da mesma, coube ao (à) candidato (a), na forma regimental, expor o tema de sua tese, dentro do tempo regulamentar, sendo em seguida questionado(a) pelos membros da Banca Examinadora, tendo dado as explicações que foram necessárias. Os conceitos atribuídos pelos membros da Banca Examinadora são os que se seguem: Dr.(a). Lívia Assis Garcia (presidente/orientadora) "aprovada", Dr.(a) Ana Laura Martins de Andrade "aprovada" e Dr(a). Cintia Cristina Santi Martignago "aprovada", Conceito final "aprovada".

Com base no resultado do exame o(a) aluno(a) fará jus ao título de **Mestre em Engenharia Biomédica**, após efetuar as correções na tese, sugeridas pela Banca Examinadora e a correspondente homologação.

Nada mais havendo a tratar, o presidente encerrou a sessão às: 16:30 horas e foi lavrada a presente ata, sendo assinada pelos membros da Banca Examinadora e, por mim secretária, Lilian Maria Mota Gentil.

Banca Examinadora:

Prof(a). Dr(a). Lívia Assis Garcia (presidente-orientador(a))



**UNIVERSIDADE
BRASIL**

Continuação da ATA PG N° 823/2023 do aluno (a) Carla Lúcia de Camargo (RA 21137324-6)

Prof(a). Dr(a). Ana Laura Martins de Andrade (UNIVERSIDADE BRASIL)

Prof(a). Dr(a). Cintia Cristina Santi Martignago (UNIVERSIDADE BRASIL)

Secretária do Mestrado em Engenharia Biomédica

Candidato (a) _____

Aluno (a)

Carla Lúcia de Camargo

Observação:

Houve alteração do Título: sim () não ()

São Paulo, SP 14 de março de 2023

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas a mulheres, mães, que assim como eu, superaram seus maiores medos e desafios para alcançar seus sonhos.

Dedico aos meus filhos, Guilherme, Emanuelle e aos meus pais, meus maiores tesouros.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela esperança que me sustenta a cada dia!

Agradeço e honro meus avós Luiz e Luiza, Dito e Lurdinha, que da forma mais singela e pura, nos ensinaram os verdadeiros valores!

Aos meus filhos, Guilherme e Emanuelle, pela compreensão, parceria, cuidado e união..." sempre foi e sempre será nós três"!

Aos meus pais, Zelão e Veruska, que são meu porto seguro, meus heróis e que sempre me apoiam, independente das minhas decisões.

Ao meu irmão Felipe e minha cunhada Nathana, por me incentivar, me motivar a ser melhor a cada dia, com os maiores presentes Bento e Miguel.

Aos meus tios Mari e Suzi, tia Sônia e tia Maria, que me inspiram como ser humano e que estão sempre torcendo e zelando por mim.

Aos anjos que chamo de amigos, professores, mestres, em especial à minha orientadora Livia, por acreditar em mim, pela amizade construída e pelos ensinamentos imensuráveis.

À equipe Ibramed Brasil, representada pelo Sr. Ricardo que disponibilizou o aparelho de ozonioterapia necessário para o desenvolvimento desse trabalho.

À nossa equipe de pesquisa, Carla Tim, Jynani Pichara, Eliana Perroudi, Daniela Leite, que contribuíram com as pesquisas e local para desenvolvimento desse projeto.

Às pacientes modelo, que gentilmente colaboraram para a realização, sem elas, não seria possível!

À CAPES pela bolsa disponibilizada.

Minha gratidão a cada um de vocês!

“Ou você diminui seus sonhos, ou aumenta suas habilidades.

A escolha é sua.”

Jim Rohn

RESUMO

O envelhecimento da pele é um processo biológico complexo, decorrente de uma combinação de fatores intrínsecos e extrínsecos, que ocasiona alterações estruturais e funcionais progressivas, bem como mudança na aparência da pele, especialmente em áreas foto expostas. O Plasma Rico em Plaquetas (PRP) e a ozonioterapia (OT) têm sido sugeridos na prática clínica como terapias promissoras e adjuvantes, entretanto as evidências são limitadas para suas recomendações. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar e comparar a segurança e eficácia do PRP em combinação com a OT de volume controlado no envelhecimento facial. Para atingir este objetivo foi realizado um estudo piloto prospectivo de centro único. Foram recrutadas participantes do sexo feminino, com idade entre 40 a 60 anos, foram randomizadas em 2 grupos: Grupo PRP (PRP): participantes foram submetidos a aplicações de PRP; Grupo PRP e ozonioterapia (PRPOT): participantes foram submetidos as aplicações de PRP associado à ozonioterapia. As intervenções foram realizadas através da técnica intradérmica facial em 42 pontos pré-estabelecidos, totalizando 4 sessões com intervalo de 15 dias entre eles. O PRP foi realizado com a primeira centrifugação a 200 g por 10 min e a segunda de 400 g por 10 min. A OT de volume controlado foi adicionada ao PRP em uma concentração de 30 µg/mL em uma proporção de 1:1. Para avaliação e reavaliação foram realizadas análises através a registro fotográficos, avaliação das rugas frontais, periorbitais, nasogenianas e marionete (*Wrinkle Assessment Scale – WAS*) avaliação de autoestima (Versão Brasileira da Escala de Autoestima de Rosenberg) e avaliação da satisfação do paciente (FACE-Q). Os resultados mostram que, ao final do tratamento, os grupos PRP e o PRPOT apresentaram menor pontuação para as rugas frontais e periorbitais avaliadas no WAS e globais, melhora da autoestima e aumento do escore de satisfação ao tratamento. Entretanto, PRPOT apresentou menor pontuação para as rugas globais e maior índices de satisfação ao tratamento comparado ao PRP. Assim, pode-se sugerir que o protocolo de PRP realizado no presente estudo assim como a sua associação com a OT de volume controlado apresentaram ser modalidades seguras e potencialmente promissoras no tratamento do envelhecimento facial.

Palavras-chave: Plasma Rico em Plaquetas; Ozonioterapia; Envelhecimento da pele, Rejuvenescimento facial; Rugas.

ABSTRACT

Skin aging is a complex biological process, resulting from a combination of intrinsic and extrinsic factors which causes progressive structural and functional changes, as well as changes in the appearance of the skin, especially in photo-exposed areas. Platelet Rich Plasma (PRP) and ozone therapy (OT) have been suggested in clinical practice as promising and adjuvant therapies, however, the evidence is limited for their recommendations. Thus, the aim of the present study was to evaluate and compare the safety and efficacy of PRP in combination with volume-controlled OT in facial aging. To achieve this goal, a single-center prospective pilot study was conducted. Female participants, aged 40 to 60 years, were randomized into 2 groups: PRP Group (PRP): participants that underwent PRP applications; PRP and ozone therapy group (PRPOT): participants that underwent PRP applications associated with ozone therapy. Interventions were performed using the facial intradermal technique in 42 pre-established points, totaling 4 sessions with an interval of 15 days between them. PRP was performed with the first centrifugation at 200 g for 10 min and the second at 400 g for 10 min. Volume-controlled OT was added to the PRP at a concentration of 30 µg/mL in a 1:1 ratio. For assessment and reassessment, analyses were performed using photographic records, assessment of frontal, periorbital, nasolabial and marionette wrinkles (Wrinkle Assessment Scale - WAS), self-esteem assessment (Brazilian Version of Rosenberg's Self-Esteem Scale) and assessment of patient satisfaction (FACE -Q). The results show that, at the end of the treatment, the PRP and PRPOT groups had a lower score for frontal and periorbital wrinkles assessed in the WAS and overall, an improvement in self-esteem and an increase in the satisfaction score with the treatment. However, the PRPOT had a lower score for global wrinkles and higher levels of treatment satisfaction compared to the PRP. Thus, it can be suggested that the PRP protocol performed in the present study, as well as its association with volume-controlled OT, proved to be safe and potentially promising modalities in the treatment of facial aging.

Keywords: Platelet-rich plasma; Ozone-therapy; Skin rejuvenation; Facial rejuvenation; Wrinkles

DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO

Esse estudo foi realizado em participantes do sexo feminino que apresentam envelhecimento da pele do rosto. A proposta foi a aplicação intradérmica de uma terapia por PRP e PRP associado com ozonioterapia, em pontos 42 pontos da face. As terapêuticas propostas mostraram ser um método seguro, confiável e eficaz em promover redução de rugas da face de mulheres que estão em processo de envelhecimento. Com a realização do estudo é possível propor que a terapêutica usando o protocolo de PRP e a associação com ozonioterapia poderiam ser implementadas como um tratamento inovador para atenuar os sinais de envelhecimento da pele.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Delineamento experimental.....	31
Figura 2: Ilustração do protocolo de Registros fotográficos.....	32
Figura 3: Representação dos pontos de aplicação	34
Figura 4: Diagrama de fluxo das voluntárias recrutadas	37
Figura 5: Gráfico representativo dos valores da avaliação das Rugas Frontais (Classificação de Rugas de WAS), referente a avaliação inicial e final nos grupos PRP e PRPOT.....	39
Figura 6: Gráfico representativo dos valores da avaliação das Rugas Periorbitais, (Classificação de Rugas de WAS), referente a avaliação inicial e final nos grupos PRP e PRPOT.....	40
Figura 7: Gráfico representativo dos valores da avaliação das Rugas Periorbitais, (Classificação de Rugas de WAS), referente a avaliação inicial e final nos grupos PRP e PRPOT.....	41
Figura 8: Gráfico representativo dos valores da avaliação das Rugas da Marionete, (Classificação de Rugas de WAS), referente a avaliação inicial e final nos grupos PRP e PRPOT.....	42
Figura 9: Valores da avaliação das Rugas Globais, (Escala de Melhora Estética Global- GAI).....	43
Figura 10: Valores da avaliação da Autoestima, (Versão Brasileira da Escala de Autoestima de <i>Rosenberg</i>).....	44
Figura 11: Valores da avaliação da Satisfação do Paciente (<i>FACE-Q</i>).....	45
Figura 12: Avaliação referente aos efeitos adversos observados ao longo dos tratamentos	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Média de dados demográficos.....	40
---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3	REVISÃO DA LITERATURA	19
3.1	PELE E ENVELHECIMENTO.....	19
3.2	PLASMA RICO EM PLAQUETAS.....	23
3.3	OZONIOTERAPIA.....	26
4	MATERIAIS E MÉTODO	29
4.1	TIPO E LOCAL DE ESTUDO.....	29
4.2	ASPECTOS ÉTICOS.....	29
4.3	AMOSTRA.....	29
4.4	DESENHO DO ESTUDO E RANDOMIZAÇÃO.....	30
4.5	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	30
4.6	AVALIAÇÕES.....	31
4.7	INTERVENÇÕES.....	33
4.8	EFEITOS ADVERSOS	35
4.9	RISCOS.....	35
4.10	BENEFÍCIOS.....	36
4.11	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
5	RESULTADOS	37
6	DISCUSSÃO	47
7	CONCLUSÃO	53
	REFERÊNCIAS	54
	ANEXOS	63

1 INTRODUÇÃO

O envelhecimento da pele é um processo multifatorial caracterizado por uma perda progressiva da funcionalidade e do potencial regenerativo (CSEKES et al., 2021). A pele, órgão com função de barreira mecanicamente protetora e flexível, é o órgão mais visível, onde todas as mudanças, inclusive o envelhecimento, são muito perceptíveis (WANG et al., 2019; KHAVKIN & ELLIS, 2011).

O processo de envelhecimento da pele pode ser classificado como intrínseco e extrínseco (FARAGE et al., 2008). O envelhecimento intrínseco da pele é um processo inevitável de alterações cronológicas e fisiológicas decorrente de fatores genéticos e epigenéticos intrínsecos (CSEKES et al., 2021). É também um processo oxidativo que está relacionado a um declínio progressivo, relacionado à idade, na capacidade antioxidante e a um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (WANG et al., 2019). Os sinais clínicos correspondentes ao envelhecimento intrínseco da pele são linhas finas, xerose (pele seca) e flacidez (KRUTMANN et al., 2017; FARAGE et al., 2008; CSEKES et al., 2021). No entanto, o envelhecimento extrínseco é restrito principalmente a locais expostos, como face, pescoço e mãos, e se manifesta predominantemente como rugas grosseiras, ressecamento, pigmentação irregular e lentigos (ou manchas senis) (ZOUBOULIS et al., 2019). Poluição e fumaça de cigarro são fatores exógenos bem conhecidos que aceleram o envelhecimento da pele, no entanto, o fator mais significativo ainda é a radiação ultravioleta (UV) caracterizado pelo “fotoenvelhecimento” (KRUTMANN et al., 2017). A radiação UV causa danos ao DNA e danos oxidativos aos componentes da pele, o que resulta na redução da síntese de componentes de colágeno e aumento da expressão de metaloproteinase de matriz (MMP), enzimas responsáveis por degradar o tecido conjuntivo dérmico, favorecendo assim o envelhecimento acelerado da pele (WANG et al., 2019; KRUTMANN et al., 2021; FARAGE et al., 2008). Ainda, a radiação UV altera a tirosinase, enzima envolvida na melanogênese, caracterizada por disfunções pigmentares da pele (KRUTMANN et al., 2017; ZOUBOULIS et al., 2019).

Evidências recentes destacam que o envelhecimento da pele cria um microambiente com características inflamatórias crônica de baixa magnitude, conhecida como “*inflammaging*”. Sugere-se que as células senescentes presentes na pele ativam componentes de SAPS (fenótipo secretor associado ao estado senescente), citocinas que degradam componentes da matriz extracelular, desempenhando um papel importante no envelhecimento da pele (CSEKES et al.,

2021; WANG et al.; 2019; LEE et al., 2021; PILKINGTON et al., 2021). Portanto, mais atenção deve ser dada ao envelhecimento da pele (CSEKES et al., 2021; ZOUBOULIS et al., 2019).

Estatísticas mostram um aumento expressivo na busca por tratamentos dermatológicos e estéticos para melhorar a aparência da pele, visto que a saúde da pele é considerada um dos principais fatores representativos do bem-estar geral e da percepção de saúde do ser humano (ZOUBOULIS et al., 2019). Estima-se que a incidência aumente cada vez mais, principalmente com o envelhecimento populacional e o crescimento exponencial de indivíduos com comorbidades e doenças relacionadas ao envelhecimento da pele (CSEKES et al., 2021).

Nessa perspectiva, a dermatologia estética realiza tratamentos denominados de antienvelhecimento, os quais estão voltados à prevenção, regeneração e atenuação minimizar os sinais do envelhecimento da pele, proporcionando uma pele mais saudável, suave, sem manchas, translúcida e resiliente. Os tratamentos frequentemente utilizados estão voltados às medidas preventivas, uso de estratégias cosmetológicas, invasivos e recursos terapêuticos de ação local e/ou sistêmicas e associação de técnicas, entretanto, nenhum tratamento específico foi estabelecido (LANDAU et al., 2017; ZOUBOULIS et al., 2019).

Na última década, o plasma rico em plaquetas (PRP) tem recebido considerável atenção na área da dermatologia desde a elucidação de seu mecanismo de ação e relatos de sua eficácia clínica principalmente por ser considerado um método minimamente invasivo (LIN et al., 2020; EVANS et al., 2021). Por definição, o PRP é uma concentração supra fisiológica autóloga de plaquetas humanas suspensa em uma solução de plasma. Dentro dos grânulos secretores predominantes das plaquetas, grânulos alfas (α), contêm grandes reservatórios de proteínas bioativas, incluindo mensageiros do sistema imunológico, enzimas e fatores de crescimento vitais para a regeneração e remodelamento tecidual (MARX, 2001; HESSELER; SHYAM, 2019; WHITE et al., 2021). Essas moléculas são fundamentais para os processos de proliferação e diferenciação celular, remodelamento da matriz extracelular e angiogênese sendo uma técnica biologicamente adequada para muitas aplicações regenerativas (GAWDAT et al, 2017; JIMÉNEZ GÓMEZ et al., 2018; LIN et al., 2020; EPPLEY et al., 2004; CAO et al., 2021; WHITE et al., 2021; EVANS et al., 2021).

Foi evidenciado que o tratamento com o PRP apresenta benefícios para diversas doenças de pele e problemas cosméticos particularmente nas áreas de

restauração capilar, rejuvenescimento da pele, cicatrizes de acne, aumento dérmico e estrias distensas (LIN et al., 2020). Ainda, o PRP é capaz de proporcionar o remodelamento do tecido conjuntivo na pele envelhecida sendo considerado, portanto, uma ferramenta potencial para o rejuvenescimento da pele (KIN et al., 2011; GAWDAT et al., 2017). Apesar da crescente popularidade do PRP no tratamento do envelhecimento facial, a qualidade das evidências que suportam seu uso é baixa devido à falta de métodos consistentes de preparação e aplicação (LEE et al., 2019).

Ademais, outra técnica que vem ganhando destaque na área estética e dermatológica é a terapia com ozônio (O₃), ozonioterapia (OT) por também se tratar de um procedimento minimamente invasivo, bem tolerado e de baixo custo (LACERDA et al., 2020; OLIVEIRA MODENA et al., 2022). É sugerido que a eficácia da OT na reabilitação da pele esta relacionada ao estresse oxidativo moderado produzido pelas interações do O₃ com componentes biológicos, resultando em efeitos analgésicos, modulador do processo inflamatório, reparador e imunomodulador e angiogênese (SMITH et al., 2017; ZENG et al., 2019; LIU et al., 2022; LIU et al., 2022).

Além disso, o desenvolvimento tecnológico vem permitindo a manufatura de geradores de ozônio cada vez mais modernos e precisos e que, por sua vez, determinam a liberação e aplicação de concentrações exatas de O₃ em tempo real, o que garante a consistência e segurança da terapia (ELVIS; EKTA, 2011).

Desta forma, embora haja o uso difundido do PRP e da ozonioterapia na prática clínica comum, algumas questões referentes à utilização das técnicas no envelhecimento da pele ainda não são bem compreendidas. Em particular, existem poucos estudos avaliando a segurança e a efetividade de protocolos de preparo de PRP frequentemente utilizados na prática clínica. Ademais, há uma carência de estudos na literatura investigando a combinação do PRP com a OT, baseado na hipótese de que o gás ozônio poderia potencializar os efeitos do PRP, constituindo-se uma opção promissora a ser utilizado na prática clínica. Nesse sentido, evidências clínicas perante esse cenário seriam de grande valia para compreender os benefícios da combinação dessas abordagens terapêutica no tratamento do envelhecimento da pele. Assim, o objetivo do presente estudo foi verificar as implicações clínicas de um protocolo de PRP e da sua combinação com OT de volume controlado no tratamento do envelhecimento facial.

2 OBJETIVOS

Avaliar e comparar a segurança e eficácia de um protocolo de Plasma Rico em Plaquetas (PRP) e sua associação com ozonioterapia (OT) de volume controlado no envelhecimento facial.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a ação dos tratamentos sobre as principais rugas faciais;
- Investigar os efeitos dos tratamentos sobre autoestima e satisfação do participante;
- Avaliar os eventos adversos relatado pelo participante ou observado pelos investigadores.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 PELE E ENVELHECIMENTO

O envelhecimento é um processo dependente do tempo, determinado por mudanças persistentes na funcionalidade e reprodutibilidade do organismo e aumento da probabilidade de morbidade e mortalidade (HÖHN et al., 2017). Enquanto os sinais de envelhecimento dos órgãos internos são mascarados dos “olhos” ambientais, a pele humana fornece as primeiras marcas óbvias da passagem do tempo, visto que está constantemente exposta a estímulos internos e externos, fato que impacta na sua funcionalidade com a progressão da idade (NIKOLAKIS et al., 2013; CSEKES et al., 2021).

A pele é caracterizada como um órgão complexo e dinâmico que recobre toda superfície do corpo humano, sendo responsável pela barreira física entre o corpo e o meio ambiente, e possui a função de atenuar a perda de água e eletrólitos e protegendo contra a penetração de substâncias indesejáveis e microrganismos, auxilia na regulação da temperatura corporal, fornece vigilância imunológica, além de possuir nervos autônomos e sensoriais que detectam estímulos de toque, vibração, pressão, temperatura, dor e coceira (ARDA et al., 2014). Ademais, é um componente importante da beleza externa sendo o foco de vários procedimentos cirúrgicos e não cirúrgicos cutâneos (KHAVKIN; ELLIS, 2011).

A camada mais externa da pele, a epiderme, é classificada como um epitélio estratificado pavimentoso e queratinizado em contínua renovação. A principal célula da epiderme é o queratinócito, perfazendo aproximadamente 95% das células epidérmicas. À medida que os queratinócitos se multiplicam, da membrana basal para a superfície da pele, eles formam várias camadas/estratos epidérmicos morfológicamente distintas, apresentadas como: basal ou germinativo, espinhosa, granuloso e córneo. Outros tipos de células são encontrados na epiderme como os melanócitos, células de *Langerhans* e células de *Merkel* (WYSOCKI, 1995).

Os melanócitos estão alocados na camada basal e possuem função de produzir a melanina a partir da tirosina associada à atividade enzimática da tirosina quinase, sendo então armazenada no interior de uma organela denominada de melanossomas. Os melanossomas são transportados ao longo dos processos dendríticos dos melanócitos para os queratinócitos adjacentes com a finalidade de proteger o núcleo dos efeitos nocivos da radiação UV (KHAVKIN; ELLIS, 2011). Com a idade, a densidade de melanócitos diminui de 6% a 8% por década, fato que explica

as alterações na pigmentação da pele observada no envelhecimento (KHAVKIN; ELLIS, 2011; HUGHES; BISHOP, 2022)

As células de *Langerhans* são células encontradas principalmente na camada espinhosa, constituindo cerca de 3 a 6% de todas as células da epiderme. Os processos dendríticos das células de *Langerhans* captam os antígenos depositados na pele, os processam e os apresentam aos linfócitos T para ativação da resposta imune. O número de células de *Langerhans* aumenta durante reações alérgicas, como hipersensibilidade de contato. Com o envelhecimento e a exposição crônica ao sol, o número de células de *Langerhans* diminui significativamente, o que pode desempenhar um papel permissivo no desenvolvimento de carcinoma cutâneo em indivíduos idosos com pele danificada pelo sol (HASEGAWA et al., 2020). Já, as células de *Merkel* são encontradas na camada basal da epiderme e na bainha epitelial dos folículos pilosos. Estão associadas com as terminações nervosas sensoriais na pele e podem funcionar como mecanorreceptores (KHAVKIN; ELLIS, 2011; HUGHES; BISHOP, 2022).

Entre a epiderme e a derme há uma junção dermo-epidérmica, ou seja, uma membrana basal sintetizada por queratinócitos basais e fibroblastos dérmicos, cuja função é de proporcionar um suporte mecânico para adesão da derme à epiderme (ARDA et al., 2014).

Abaixo da membrana basal, encontra-se a derme, dividida em 2 regiões distintas: a derme papilar e a derme reticular. De maneira geral, os componentes celulares da derme incluem células dendríticas, macrófagos, mastócitos e fibroblastos. Destaca-se que o fibroblasto é a célula responsável por sintetizar uma matriz extracelular interligada de fibras dérmicas (fibras colágenas, reticulares e elásticas) e a substância fundamental (glicoproteínas e proteoglicanos). A derme papilar está localizada logo abaixo da junção dermo-epidérmica e forma projeções ascendentes cônicas conhecidas como papilas dérmicas que aumentam a área da interface dermo-epidérmica e permitem melhor adesão entre a derme e a epiderme. Possui feixes de colágeno frouxamente arranjados (maior predominância do tipo I), fibras elásticas, vasos sanguíneos abundantes e terminações nervosas. A derme reticular contém fibras colágenas compactas (maior predominância do tipo III), fibras elásticas mais espessas, aloja alguns órgãos anexos e também possui redes vasculares e nervosas (KHAVKIN; ELLIS, 2011; ARDA et al., 2014).

Destaca-se que o colágeno é o principal constituinte da derme, aproximadamente 90% das fibras dérmicas com destaque para os tipos I e III,

conferindo resistência tênsil e resistência mecânica à pele (KHAVKIN; ELLIS, 2011). As fibras elásticas são responsáveis por devolver a pele à sua configuração normal após a deformação e estendem-se desde a lâmina densa da junção dermo-epidérmica até a derme reticular. Já, as fibras reticulares também estão presentes na derme e consistem em fibras finas de colágeno e fibronectina (ARDA et al., 2014).

Abaixo da pele, encontra-se a hipoderme, também conhecida como tela subcutânea, responsável por isolar o corpo e o proteger de lesões mecânicas, além de servir como reserva de energia. A principal célula da região é o adipócito que apresenta disposto em lóbulos separados por septos de tecido conjuntivo. A espessura dessa camada mostra variação anatômica e individual e reflete o estado nutricional do indivíduo (CSEKES et al., 2021; KHAVKIN; ELLIS, 2011).

Com relação ao envelhecimento da pele, caracteriza-se por processos intrínsecos e extrínsecos (FARAGE et al., 2008). O envelhecimento intrínseco ou cronológico é determinado por fatores genéticos e epigenéticos e é um processo inevitável na pele. A nível celular, o envelhecimento foi descrito pela primeira vez por *Hayflick e Moorhead* (HAYFLICK; MOORHEAD, 1961), que demonstraram que os fibroblastos primários humanos têm uma capacidade limitada de se dividir. Isso é conhecido como limite de *Hayflick* e se origina da incapacidade dos telômeros de manter seus comprimentos devido ao processo de replicação. Consequentemente, as células perdem sua capacidade proliferativa e entram em um estado de parada irreversível do ciclo celular, mais tarde denominada senescência celular ou replicativa (CSEKES et al., 2021; WANG et al., 2019). O processo é acompanhado por queda na produção de enzima antioxidante e consequente aumento de ROS (WANG et al., 2019). A pele intrinsecamente envelhecida apresenta flacidez, xerose e algumas linhas de expressão (FARAGE et al., 2008; KHAVKIN; ELLIS, 2011).

O envelhecimento extrínseco é ocasionado por fatores externos, tais como, radiação UV, poluição do ar, fumaça de cigarro, fatores nutricionais, temperatura, estresse e falta de sono, entretanto, a radiação UV ainda é considerada a mais deletéria para a pele (FARAGE et al., 2008; KRUTMANN et al., 2017). Um dos principais efeitos do UV na derme da pele é ocasionar danos às estruturas celulares e destruir a integridade do tecido conjuntivo devido a produção de radicais livres e atividade de enzimas antioxidantes reduzidas, favorecendo ainda mais o estresse oxidativo (KRUTMANN et al., 2021).

Ao mesmo tempo, o excesso de radicais livres ativa a via de sinalização de marcadores inflamatórios, como o fator nuclear kappa B (NF- κ B), o que ocasiona o

aumento do nível de citocinas pro-inflamatória como o TNF- α e a expressão de MMPs) capazes de degradar componentes da matriz extracelular e acelerar o envelhecimento da pele (WANG et al., 2019). Os sinais clínicos do fotoenvelhecimento incluem rugas mais evidentes, ressecamento, pigmentação irregular, perda de elasticidade, telangiectasias e áreas de púrpura com destaques para áreas foto expostas (CSEKES et al., 2021).

Histologicamente é observado na pele envelhecida uma epiderme com espessura diminuída e achatamento da junção dermo-epidérmica, o que contribui para o aumento da fragilidade da pele, reduz a transferência de nutrientes entre a derme e a epiderme e a formação de rugas. A capacidade proliferativa das células epidérmicas basais diminui, fato que ocasiona um reparo mais lento e descamação menos eficaz (KHAVKIN; ELLIS, 2011; CSEKES et al., 2021). A derme torna-se atrófica com número reduzido de fibroblastos, a síntese de moléculas de matriz extracelular prejudicada, o número e o diâmetro dos feixes de fibras de colágeno diminuem, a proporção de colágeno tipo III para colágeno tipo I aumenta (principalmente devido à perda de colágeno I) e alterações na organização das fibras elásticas, que se manifesta como adelgaçamento dérmico progressivo, aumento do enrugamento e perda de elasticidade (AUTIO et al., 1994; WANG et al., 2019). Sabe-se que o conteúdo total de colágeno por unidade de área da superfície da pele diminui aproximadamente 1% ao ano associado a uma diminuição do tecido adiposo subdérmico (AUTIO et al., 1994). Ainda, a pele foto envelhecida também é caracterizada pelo acúmulo de material de elastina logo abaixo da junção dermo-epidérmica, conhecido como elastose e pela fragmentação acelerada do colágeno e das fibras elásticas (devido intensa atividade de MMPs), ocasionando rugas mais profundas, flacidez, opacidade e aspereza (WANG et al., 2019; KRUTMANN et al., 2021; FARAGE et al., 2008; ZOUBOULIS et al., 2019).

Recentemente foi observado que as células senescentes (induzidas tanto por fatores intrínsecos ou extrínsecos se acumulam na pele envelhecida e podem contribuir para alterações e doenças da pele relacionadas à idade (CSEKES et al., 2021; HÖHN et al., 2017). Evidências crescentes sugerem que os queratinócitos e fibroblastos senescente secretam citocinas e enzimas modificadoras da matriz extracelular, promovendo inflamação, comprometimento mitocondrial e regulação positiva da sinalização de resposta ao dano do DNA e deterioração tecidual (LEE et al., 2021; PILKINGTON et al., 2021). O aumento da produção destes componentes conhecidos como SASP (fenótipo secretor associado ao estado senescente) é uma

das marcas mais relevantes da senescência (CSEKES et al., 2021). Essencialmente, a nocividade das células senescentes consiste no aumento da produção de fatores SASP, como IL-1, IL-6, IL-8, MMP-1 e MMP-3, capazes de degradar a matriz extracelular (WANG et al., 2019). Assim, o envelhecimento humano é caracterizado por inflamação crônica persistente de baixo grau, terno conhecido, do inglês como “*inflammaging*”, ocasionando a modificações molecular, celular e fisiológica relacionado à idade (LEE et al., 2021; PILKINGTON et al., 2021).

Alterações cutâneas associadas ao envelhecimento cronológico ou fotoenvelhecimento, como enrugamento, flacidez e alterações na pigmentação, levam os pacientes a procurar procedimentos estéticos para melhorar a aparência da pele. Além da questão estética, o envelhecimento da pele aumenta o risco de suscetibilidade a internação, feridas crônicas, como úlceras venosas, por pressão ou pé diabético, e vários tipos de dermatites e malignidades, incluindo melanoma (CSEKES et al., 2021; ZOUBOULIS et al., 2019).

A dermatologia estética pode contribuir para o envelhecimento saudável desempenhando um papel significativo na prevenção, regeneração e retardo do envelhecimento da pele (ZOUBOULIS et al., 2019). Várias estratégias antienvhecimento tem sido desenvolvidas nos últimos anos, como as medidas preventivas (evitando fatores exógenos do envelhecimento, correção de estilo de vida e hábitos), estratégias cosmetológicas, agentes terapêuticos tópicos e sistêmicos e procedimentos invasivos (LANDAU et al., 2017; ZOUBOULIS et al., 2019).

Nesse cenário, o uso do plasma rico em plaquetas (PRP) (EMER, 2019; LIN et al., 2020), assim como o interesse na aplicação da terapia com O₃ aumentou consideravelmente nos últimos anos (LACERDA et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2022).

3.2 PLASMA RICO EM PLAQUETAS

O plasma rico em plaquetas (PRP) é uma das preparações mais utilizadas na medicina regenerativa e está em constante expansão no campo da dermatologia estética sendo considerada uma técnica minimamente invasiva (EMER, 2019; LIN et al., 2020; WHITE et al., 2021; EVANS et al., 2021).

É caracterizado como uma porção da fração plasmática do sangue autólogo com concentração de plaquetas acima da linha de base (normalmente 3 a 7 vezes a concentração média de plaquetas do sangue total) (MARX, 2001; HESSELER; SHYAM, 2019). É produzido por centrifugação de sangue total e sua natureza

autóloga sugere um excelente perfil de segurança (WHITE et al., 2021). O PRP não contém apenas um alto nível de plaquetas, mas também possui uma gama completa de fatores de coagulação, fatores de crescimento, quimiocinas, citocinas e outras proteínas plasmáticas (EMER, 2019; LIN et al., 2020).

A terminologia PRP foi usada pela primeira vez na hematologia na década de 1970 para descrever o plasma com maior concentração de plaquetas do que no sangue periférico (ALVES et al., 2017). Em 1974, Kohler e Lipton, ao estudar a fisiologia dos fibroblastos, descobriram que as plaquetas poderiam ter importância como estimulantes do crescimento (CAO et al., 2021). Nos anos seguintes, novas pesquisas indicaram que as plaquetas são uma fonte de fatores de crescimento que estimulam a atividade dos fibroblastos (EPPLEY et al., 2004). Desde então, o PRP tem sido empregado em muitas aplicações cirúrgicas, odontológica e médicas e continua a se desenvolver como uma terapia versátil em dermatologia (WHITE et al., 2021; EVANS et al., 2021).

As plaquetas, também conhecidas como trombócitos, correspondem a um fragmento celular, anucleados que se originam de a partir de um megacariócitos (células da medula óssea). Fisiologicamente, as plaquetas desempenham um papel importante na resposta inicial da hemostasia primária do reparo tecidual. É conhecido que após o dano tecidual e a exposição do colágeno subendotelial, as plaquetas aderem à parede do vaso danificado, ativam-se e agregam-se, formando um tampão plaquetário com subsequente formação de trombos, preparando a área reparo (THON et al., 2012; WHITE et al., 2021). Os grânulos predominantes de plaquetas, grânulos α , contêm proteínas bioativas, denominadas fatores de crescimento, que são excitados após a ativação e são amplamente responsáveis por promover a regeneração das células-tronco e a remodelação dos tecidos moles (THON et al., 2012; EMER et al., 2019).

Muitos fatores de crescimento fundamentais estão contidos nos grânulos α do PRP, como fatores de crescimento derivados de plaquetas (aa, bb, ab), fator de crescimento do endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento epitelial (EGF), fator de crescimento fibroblástico (FGF), fator de crescimento transformador beta (TGF- β) e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) (GAWDAT et al., 2017; JIMÉNEZ GÓMEZ et al., 2018; LIN et al., 2020; EVANS et al., 2021).

A diferenciação e mitogênese de monócitos, células-tronco, queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais ocorrem como um resultado de fatores de crescimento de grânulos do PRP (CAMELI et al., 2017; LEE et al., 2019). Esses

fatores de crescimento também são conhecidos por induzir proliferação celular, angiogênese e quimiotaxia, além de conter serotonina, dopamina, histamina, adenosina e cálcio, que aumentam a permeabilidade da membrana (GAWDAT et al., 2017; EVANS et al., 2021). De acordo com, Kikuchi et al., (2019), o PRP contém concentrações supra fisiológicas da maioria dessas moléculas.

Atualmente, o PRP é usado em uma variedade de aplicações clínicas na dermatologia estética, como restauração capilar, cicatrização de feridas, alopecia androgênica, alopecia areata, vitiligo crônico, melasma, doenças inflamatórias das unhas, psoríase dentre outros (LIN et al., 2020). Entretanto, a busca por técnicas popularmente consideradas “mais naturais” que sejam capazes de reverter os danos à pele relacionados à idade levou a ampla utilização do PRP na prática dermatológica (KIN et al., 2011; GAWDAT et al., 2017). Embora o PRP tenha sido usado clinicamente para o rejuvenescimento da pele por vários anos, o primeiro ensaio clínico randomizado controlado foi por Alam et al. (2018) onde os autores observaram que o PRP apresentou melhora significativa na textura da pele e rugas em comparação com a pele tratada com solução salina.

Atualmente, uma correlação positiva entre PRP e antienvelhecimento da pele vem sendo relatada na prática pré-clínica e clínica (DU et al., 2020). Relatos clínicos apontam que a aplicação do PRP melhora a qualidade, textura e tônus da pele, utilizado tanto por meio de injeções intradérmica e/ou em combinação com outras tecnologias (NOFAL et al., 2014; SEVILLA et al., 2015; ELNEHARWY et al., 2017; JIMÉNEZ GÓMEZ et al., 2018; EVERTS et al., 2019; CAMELI et al., 2017; DU et al., 2020). Entretanto, a principal limitação dos resultados clínicos encontrados na literatura é a heterogeneidade de metodologias de preparação do PRP utilizadas (por exemplo, ativadores; número, velocidade e tempo de centrifugações; temperatura; materiais de tubo de ensaio), volume ideal e técnica, local e frequência de administração (LIN et al., 2020). Portanto, tirar a conclusão final sobre a melhor maneira de preparação ainda é um limitante. Isso mostra claramente que mais pesquisas são necessárias para confirmar a eficácia e a possibilidade de sua aplicação em muitos outros distúrbios.

Além disso, o uso de PRP quando combinado com outras modalidades de tratamento, como preenchimentos dérmicos, lasers e outros dispositivos, demonstra melhorias significativas na aparência, textura e tônus da pele (EMER et al., 2019). Nos dias atuais observa-se que o uso PRP em associação a OT ganhou popularidade no campo dermatológico.

3.3 OZONIOTERAPIA

O potencial terapêutico do gás ozônio, denominado de ozonioterapia vem sendo reportado desde o período da I Guerra Mundial com seu uso e sucesso no reparo de feridas infectadas (DI PAOLO; BOCCI; GAGGIOTTI, 2004). Ozônio é uma molécula gasosa instável composta por três átomos de oxigênio, sendo a terceira potência oxidante (BOCCI et al., 2011). É produzido a partir das moléculas de O_2 através de fontes básicas de energia, incluindo eletrólise química, descargas elétricas e radiação da luz UV (BOCCI et al., 2009).

O responsável por construir o primeiro gerador de O_3 (por método corona), foi Nikola Tesla 1896, seguido posteriormente pela introdução de geradores de O_3 específicos, os quais misturam de O_2 medicinal e O_3 (no mínimo, 95% O_2 e não mais que 5% O_3) (ELVIS; EKTA, 2011).

As primeiras evidências sobre a existência do gás foram mencionadas em 1785 por um médico e físico holandês, Martins Van Marum, o qual observou que as descargas elétricas advindas de tempestades exalavam um odor característico e diferenciado. Em 1840 um químico-físico alemão, Friedrich Christian Schönbein, provou que o gás de coloração azulada e odor singular, denominando-o de gás ozônio, do grego *ozein* (aquilo que cheira), originava-se do contato de descargas elétricas com o O_2 , originavam um gás de coloração azulada e odor singular, denominando-o de gás ozônio, do grego *ozein* (BOCCI, 2009; BOCCI, 2011).

No século XIX, a ozonioterapia, que emprega uma mistura gasosa de O_2 medicinal e O_3 , começou a ser utilizada pela comunidade médica e, atualmente vêm sendo utilizada em diversos países (BOCCI, 2011; SCHWARTZ; SÁNCHEZ, 2012). A terapia pode ser administrada de maneira local através de água, óleo e gás O_2/O_3 ; e sistêmica, insuflação retal auto-hemoterapia maior ou menor (BOCCI, 2006).

É crescente o número de estudos que investigam os efeitos da OT no funcionamento biológico, com a finalidade de melhor compreender os mecanismos básicos de ação que sustentam seus efeitos locais e sistêmicos da terapia (de SIRE et al., 2021). O que assegura suas várias e heterogêneas aplicações clínicas que atualmente são vistas na prática clínica em diversos países é o fato de a OT possuir propriedades antimicrobianas (inativação de bactérias, vírus, fungos, leveduras e protozoários), modular processos inflamatórios, ocasionar ações antioxidantes, analgésica, imunomodulatória e angiogênica (SMITH et al., 2017; ZENG et al., 2019; LIU et al., 2022).

O principal mecanismo de ação da ozonioterapia é baseado no fato do gás ozônio reagir com componentes celulares, com destaque os ácidos graxos poli-insaturados da membrana basal, ocasionando um estresse oxidativo transitório e moderado e a formação de produtos fundamentais conhecidos como ozonídeos. Os ozonídeos mais conhecidos são as espécies reativas de oxigênio (ROS) que incluem o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical ânion superóxido (O^-), radical hidroxila ($OH\cdot$) e óxido nítrico (NO); e os subprodutos de peroxidação lipídica (LOPS) como os 4-HNE (de PUFA ômega-6) e 4-HHE (trans-4 hidroxí-2-hexenal de PUFA ômega-3) (SMITH et al., 2017), mensageiros dos quais possuem fundamental importância clínica pois sinalizam e desencadeiam mudanças metabólicas e estruturais responsáveis pelos efeitos terapêuticos a curto e longo prazo da ozonioterapia (ELVIS; EKTA, 2011).

Assim, a OT é uma estratégia de tratamento emergente que atua por meio de mecanismos complexos. Sugere-se que a OT possa ser usado como complemento das terapias anti-envelhecimento devido seu mecanismo de atuação ao entrar em contato com a pele (LIU et al., 2022). A literatura mostra que, por meio de estresses oxidativos leves repetidos, a OT pode induzir a regulação positiva de fatores nucleares, como o fator nuclear eritróide 2 (Nrf2), que conseqüentemente transcreverá elementos de resposta antioxidante (ERA), estacando a produção de potentes enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase, catalase (CAT) e NADPH quinona-oxidoreductase (NQO1) (SAGAI; BOCCI 2011; RE et al., 2008). Nrf2 desempenha um papel importante nas vias de sinalização intracelular da inflamação e essa estimulação poderá resultar em uma atenuação resposta ao estresse oxidativo, característica presente do envelhecimento (SCASSELLATI et al., 2020).

O estudo recentemente conduzido por Hielbert et al. (2022) mostraram que a ativação da sinalização Nrf2-antioxidante pode atenuar o fator de transcrição nuclear, NF- κ B, um regulador chave da resposta inflamatória encontradas na derme durante o envelhecimento. Adicionalmente, os ozonídeos gerados atuam como mediadores fisiológicos, responsáveis por estimular importantes fatores de crescimento benéficos para a reparação de tecidos. É importante observar que o nível de LOPs e ROS devem ser adequados para agirem como reguladores bioquímicos e evitar efeitos tóxicos celulares (ELVIS; EKTA, 2011).

Ressalta-se a importância de um gerador adequado que permita medições precisas e reprodutíveis das concentrações da mistura O_2/O_3 . Assim, um gerador de ozônio de qualidade é essencial para o sucesso do tratamento (ELVIS; EKTA, 2011).

De acordo com os relatos supracitados, sugere-se que o PRP e a ozonioterapia possuem potencial terapêutico promissor em reduzir os sinais de envelhecimento cutâneo. No entanto, embora haja o uso difundido na prática clínica algumas questões referentes às técnicas ainda não estão bem compreendidas. Em primeiro lugar, não há um consenso padrão a respeito do melhor preparo do PRP para o tratamento de rugas faciais. Em segundo lugar, há uma carência de estudos na literatura investigando o efeito da associação do PRP com a OT no envelhecimento facial.

Acredita-se que a aplicação do PRP e sua associação com a ozonioterapia, poderia constituir um tratamento com maior potencial para aumentar o sistema antioxidante e estimular a produção de componentes da derme, atenuando assim as manifestações clínicas do envelhecimento da pele e otimizando a autoestima de mulheres. Todavia, faz-se necessário o aprofundamento de estudos na área para elucidar os efeitos da utilização destas abordagens terapêuticas no envelhecimento da pele. Assim, esse trabalho propõe avaliar o comparar os efeitos do PRP e de sua associação com a ozonioterapia.

4 MATERIAIS E MÉTODO

4.1 TIPO E LOCAL DE ESTUDO

Trata-se de um estudo piloto simples cego A pesquisa foi realizada na Clínica de Estética D DA S LEITE MARTINS ESTETICA AVANÇADA, situada à Rua Benjamim Constant, 635, Itu / SP.

4.2 ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi submetido para o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Brasil (Plataforma Brasil) e no Rebec (Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos). Após a aprovação (protocolo 5.450.657 – Anexo I) os sujeitos foram informados sobre os procedimentos a serem realizados durante a pesquisa, ou seja, os tratamentos, quantidades de sessões e outras informações pertinentes à pesquisa e, posteriormente assinaram um Termo de Consentimento e Esclarecimento. Cabe destacar que a equipe não onerou os planos de saúde, o SUS, ou o próprio participante da pesquisa pela execução da mesma, responsabilizando-se por todos os gastos relativos aos cuidados de rotina (exames e procedimentos) necessários após assinatura do consentimento livre esclarecido (Resolução no 466 de 2012, item III.2.o). O recrutamento das participantes foi realizado por meio de divulgação em meios de comunicação digital, ou seja, redes sociais (*Instagram* e *Facebook*).

4.3 AMOSTRA

Os critérios de inclusão adotados foram: sexo feminino; faixa etária de 40 e 60 anos; fototipo II a IV segundo a escala de Fitzpatrick (FITZPATRICK, 1999); presença de sinais de fotoenvelhecimento facial grau II a IV segundo a escala Glogau (GLOGAU, 1994); hemograma com a contagem de plaquetas normais (150.000 a 350.000 uL); consentirem a participação no estudo a assinarem o consentimento informado.

Os critérios de exclusão foram: tabagismo; mulheres grávidas ou que estejam amamentando; histórico de neoplasia; *peeling* químico ou físico ablativo nos últimos 6 meses; uso de toxina botulínica ou preenchimentos com implantes facial com material absorvível nos últimos seis meses; realização de cirurgia de procedimentos cirúrgicos (ritidoplastia e/ou blefaroplastia); paciente com impossibilidade de fazer fotoproteção durante todo o período do tratamento; pacientes com história de quelóide ou cicatriz

hipertrófica; pacientes com lesão cutânea infectada ou inflamada na face nos últimos 12 meses; doenças de base como hipertensão arterial sistêmica descontrolada, doença hepática, renal, hematológica (coagulopatias e/ou púrpuras, deficiência de glicose 6-fosfato), inflamatória, reumatológica, diabetes; contagem de plaquetas abaixo 150.000 /uL, de hipersensibilidade ao tratamento de ozonioterapia; recusa em assinar o termo de consentimento livre e esclarecido.

Ainda, foram estabelecidos os critérios de descontinuidade: desistência das participantes; duas faltas consecutivas; apresentar alguma desordem/infecção que implique em uso de antibióticos ao longo do estudo.

4.4 DESENHO DO ESTUDO E RANDOMIZAÇÃO

As participantes foram aleatoriamente distribuídas em 2 grupos através de um sorteio, mantendo sigilo com envelopes opacos, selados e numerados, conforme descrito abaixo:

- 1) Grupo PRP (PRP): participantes receberam o tratamento de PRP
- 2) Grupo PRP e ozonioterapia (PRPOT): participantes foram submetidas ao tratamento da PRP associado à ozonioterapia;

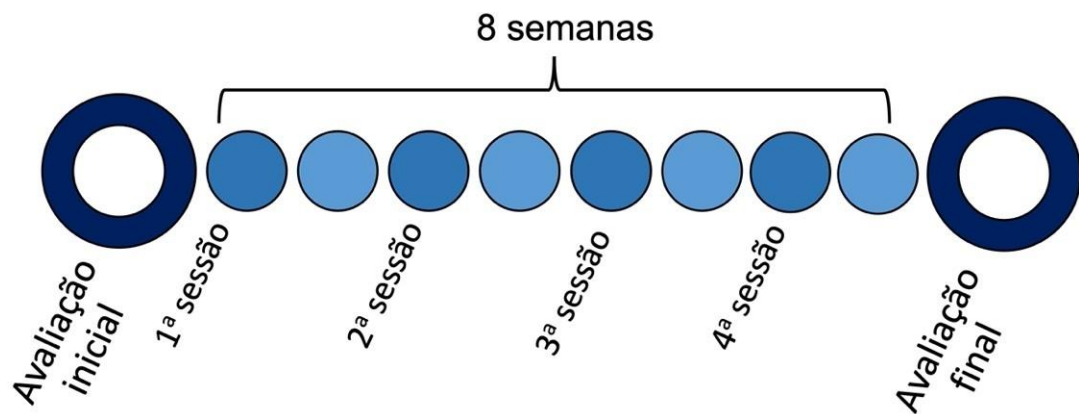
Avaliação e reavaliação foram realizadas por um pesquisador cego para os grupos experimentais. Os pacientes também desconheciam o tipo de tratamento (PRP ou PRP associado ao ozônio).

4.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As participantes foram submetidas a 4 sessões de tratamentos com intervalo de 2 semanas entre eles. O delineamento experimental desta pesquisa foi constituído pela avaliação inicial através de uma ficha de anamnese (ANEXO II) que consta de dados pessoais, históricos médico e dermatológico, realizada por um biomédico devidamente treinado e habilitado. Em seguida, todas as participantes passaram por avaliação utilizando a Escala dos Tipos de Pele de Fitzpatrick pela Reação Solar (FITZPATRICK, 1988); Escala de Envelhecimento de Glogau (GLOGAU, 1996). Após a entrada na pesquisa, as participantes foram submetidas a registro fotográficos para avaliação das rugas frontais, periorbitais, nasolabiais nasogeniana e marionete (*Wrinkle Assessment Scale – WAS*) e globais (Escala de Melhora Estética Global [GAIS]), avaliação de autoestima (Versão Brasileira da Escala de Autoestima de Rosenberg) e

avaliação da satisfação do paciente (FACE-Q). As avaliações foram realizadas imediatamente antes da primeira sessão de tratamento e 2 semanas após a última sessão (Figura 1). Cabe destacar que as participantes foram orientadas a não mudar sua rotina de cuidados com a pele durante todo o período experimental.

Figura 1: Delineamento Experimental



Fonte: Autor, 2022.

4.6 AVALIAÇÕES

4.6.1 REGISTRO FOTOGRÁFICO

Todas as participantes foram fotografadas sentadas em um banco, altura de 0,45 cm, com a câmera do Celular SANSUNGGALAXY A72, 64 mg pixel, resolução de 9.238 x 6.928, fixada em um tripé afim de garantir a reprodução da imagem nos demais momentos do estudo. Foram padronizadas a distância 0,60 cm, a altura do tripé 110 cm, a iluminação, sem interferência luz externa e vestimenta de cor preta, além do posicionamento das participantes, com o dorso posterior (costas) apoiado na parede de fundo, para garantir o enquadramento e possibilitar a sua reprodução tanto entre as participantes quanto nos demais momentos do estudo.

Figura 2: Ilustração do protocolo de Registros fotográficos



A) Posição frontal; B) Lado direito; C) Lado esquerdo; D) Posição frontal sorrindo; E) lado direito sorrindo; F) Lado esquerdo sorrindo.

Fonte: Autor, 2023

4.6.2 AVALIAÇÃO DAS RUGAS NASOLABIAIS, PERIORBITAIS, MARIONETE E GLOBAIS

Após registo fotográfico os avaliadores classificaram as rugas frontais, periorbitais, nasogeniana, marionete e globais. Para avaliação das rugas nasolabiais, frontais, periorbitais, nasogeniana e marionete foram avaliadas através da Classificação de *Wrinkle Assessment Scale* – WAS (ANEXO III). A escala de classificação possui 6 pontos (0- 5 pontos) e o grau da ruga do rosto de um paciente pode ser comparado com modelos fotográficos pré-definidos e estabelecido por Lemperle et al., (2001). As rugas globais foram avaliadas utilizando a Escala de Melhora Estética Global (GAIS) (ANEXO IV). Foi avaliado a aparência das participantes no final do tratamento atribuindo um escore que variava de 3 (muito melhor) a -3 (muito pior) para cada lado da face.

4.6.3 AVALIAÇÃO DA AUTOESTIMA

Para a avaliação da autoestima foi utilizada a Versão Brasileira da Escala de Autoestima de *Rosenberg* (ANEXO V) para todas as participantes. Trata-se de uma escala traduzida para a língua portuguesa, adaptada ao contexto cultural da população brasileira e validada entre indivíduos no pré-operatório de cirurgias plásticas (DINI et al., 2004). Este instrumento é autoaplicável e consiste em 10 afirmativas, sendo cinco responsáveis por avaliar sentimentos positivos e cinco para sentimentos negativos dos indivíduos em relação a si próprios. Sua pontuação final varia entre zero (melhor estado de autoestima) e 30 (pior estado de autoestima).

4.6.4 AVALIAÇÃO DA SATISFAÇÃO DO PACIENTE

A satisfação do participante perante ao tratamento foi avaliada ao final do estudo pela escala FACE-Q (*Satisfaction with Facial Appearance Overall* – ANEXO VI). A escala avalia a atual percepção da aparência da face quanto a características como simetria, harmonia, proporção, frescor ou vitalidade, aspecto no tempo, aspecto frente à iluminação mais intensa, aspecto em fotografias e ao perfil. Os participantes manifestam o grau de concordância variando de “discordo totalmente” (nível 1) até “concordo totalmente” (nível 4). A soma da pontuação obtida nas respostas dos pacientes aos 9 itens (1= muito insatisfeito, 2= um pouco insatisfeito, 3= um pouco satisfeito e 4= muito satisfeito). Escores mais altos indicam maior satisfação (KLASSEN et al. 2010).

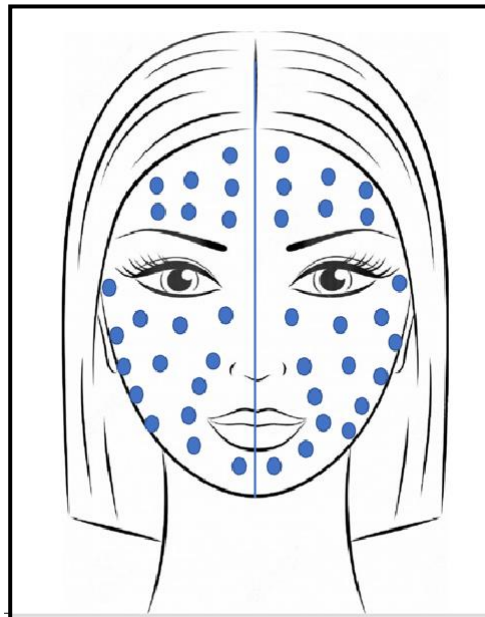
4.7 INTERVENÇÕES

4.7.1 PROTOCOLO DE PRP

Para a produção do PRP foram coletados 64 ml de sangue de cada participantes (8 tubos de coleta). Foi utilizada a técnica de coleta à vácuo. A coleta de material biológico de cada participante foi realizada por um único profissional, devidamente habilitado, o qual fez uso de EPI's obrigatórios e utilizou os seguintes materiais: garrote, algodão, álcool 70%, agulhas 22G, adaptador coleta a vácuo, tubos de coleta ACD (Citrato de Sódio) de 8,5 mL, tubo seco branco, seringa de 3 mL e 20 mL e agulha 18G.

Imediatamente após a coleta o material, foi devidamente identificado e processado com a primeira centrifugação (CENTRILAB, modelo CE1161) a 200 g por 10 minutos e posteriormente o sobrenadante foi transferido para um tubo estéril sobrenadante foi transferido com o auxílio da agulha 18 G e seringa de 3 mL, para tubos estéril e sem aditivo, permitindo a retirada do plasma com a camada de *buffy-coat*, evitando o contato com as hemácias. Foi realizada uma segunda centrifugação do plasma a 400 g por 10 minutos. O concentrado plaquetário foi aspirado, descartando-se a pequena porção sobrenadante de PPP, aproximadamente 0,5mL (plasma Pobre em Plaquetas). Um volume de 0,2 mL de PRP por ponto foi aplicado através da técnica de intradérmica, utilizando seringa de 3 mL e agulha nas dimensões de 30 G x 13 mm, angulação da agulha de 15° em 21 pontos em cada hemiface, totalizando 42 pontos (Figura 2), e volume final de 8,4 mL de PRP. Foi realizado 4 sessões de tratamento com intervalo de 15 dias entre as sessões.

Figura 3: Representação dos pontos de aplicação.



Fonte: Autor, 2023.

4.7.2 PROTOCOLO DE PRP ASSOCIADO AO OZÔNIO

Após a preparação do PRP, de acordo com as etapas descritas acima (4.7.1) o mesmo foi associado ao ozônio obtido do gerador de ozônio portátil da marca Ibramed (Amparo, São Paulo). Para tal ozonização, foi utilizado uma torneira de três

vias, uma seringa com 10 mL de PRP e outra seringa de 20 mL, contendo um volume de 10 mL de ozônio (1:1), na concentração de 30 µg/mL sendo assim homogeneizado. Imediatamente após a homogeneização um volume de 0,2 mL de PRP associado ao ozônio foi aplicado em 42 pontos da face seguindo a mesma metodologia do protocolo de PRP descrito acima.

Destaca-se que para aplicação do PRP, assim como do PRP associado ao ozônio, a pele da face das participantes foi higienizada (álcool 70%) antes de cada sessão, visando remover qualquer resquício de maquiagem e filtro solar, bem como as células mortas, secreções sebáceas e sudoríparas. Durante os tratamentos as participantes foram posicionadas sentadas e utilizou-se sempre um gabarito dos pontos de aplicação com objetivo de garantir a padronização em todas as sessões de tratamentos supracitados.

4.8 EFEITOS ADVERSOS

Os efeitos adversos dos tratamentos foram avaliados da observação dos seguintes sintomas: presença de desconforto, dor, sensação de queimação, eritema, edema e equimose. O acompanhamento foi realizado imediatamente após os tratamentos e por 3 dias consecutivos após os tratamentos, via contato telefônico.

4.9 RISCOS

Durante a coleta de material biológico (sangue) e nos tratamentos propostos, a penetração da agulha poderá ocasionar hipersensibilidade local, pequeno sangramento local, equimoses e hematoma leve e invasão de micro-organismos. No entanto, com intuito de minimizar esses efeitos, as coletas e os tratamentos foram realizados em local apropriado, por um profissional habilitado e treinando, utilizado sempre material estéril, assepsia da região antes da introdução das agulhas. Além disso, a profissional sempre fez a assepsia das mãos antes e após todos os procedimentos e sempre utilizou luvas descartáveis. As seringas e agulhas utilizadas, de uso único, foram descartadas em um recipiente adequado. Todos os materiais foram encaminhados para descarte seguindo as normas de biossegurança. Destaca-se que todo o procedimento foi explicado ao participante previamente e durante todo o procedimento.

Ademais, os pesquisadores do estudo utilizaram análises fotográficas e questionários, com objetivos de avaliar os sinais de envelhecimento, autoestima e

satisfação dos tratamentos. Essas avaliações oferecem os riscos de invasão de privacidade, tomar o tempo do participante ao responder ao questionário e por fim pode oferecer riscos relacionados a divulgação de imagens e quebra de sigilo. Para minimizar todos estes riscos, o pesquisador responsável realizou as avaliações em um local reservado, esteve atento aos sinais verbais e não verbais de desconforto, limitou o acesso as informações específicas para a pesquisa, assegurou a confidencialidade e a privacidade, a proteção da imagem e a não estigmatização, garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas, inclusive em termos de autoestima, de prestígio e /ou econômico – financeiro. Ainda, conforme as Resoluções do Conselho Nacional de Saúde foram aplicadas as garantias previstas de assistência integral, gratuita e pelo tempo que for necessário e direito de solicitação de indenização por danos decorrentes da pesquisa, cujo mérito foi julgado em sua instância adequada, conforme a Resolução CNS nº 466 de 2012, itens III.2.o, IV.3.c, V.6 e V.7.

Enfatiza-se que todos os profissionais envolvidos na pesquisa que tiverem acesso aos dados dos pacientes têm conhecimento e acerca da resolução CFM nº 999/80 de 23 de maio de 1980, mantendo sempre o sigilo e o compromisso de não divulgação de dados de identificação.

4.10 BENEFÍCIOS

Espera-se com o presente estudo a demonstração dos efeitos do PRP e sua associação com a ozonioterapia, um tratamento de baixo custo, com intuito de atenuar os sinais do envelhecimento, favorecendo a autoestima entre mulheres, saúde geral e diminuindo o uso de medicamentos (efeitos adversos do mesmo) e número de intervenções cirúrgicas.

4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

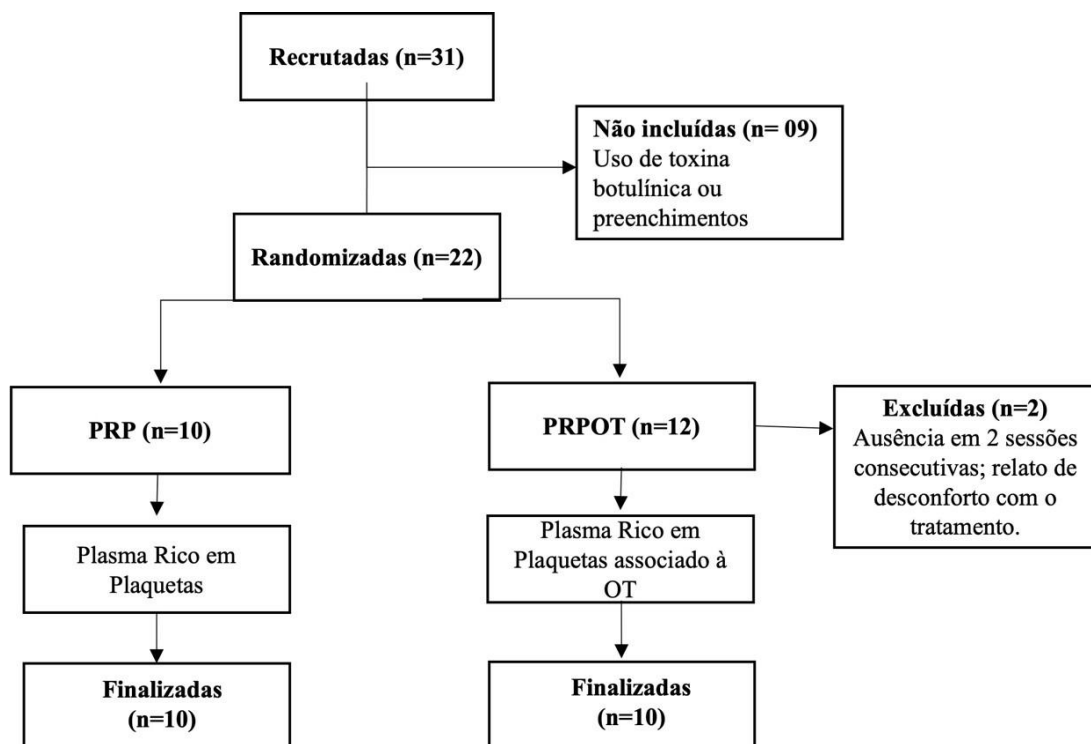
Os dados foram analisados estatisticamente por meio de técnicas descritivas, na forma de médias e desvios-padrão. O teste de normalidade de *Shapiro-Wilk's* foi utilizado para todas as variáveis. Para a comparação das avaliações iniciais e finais do tratamento, utilizou-se o teste T de *Wilcoxon* em todas as variáveis analisadas. Para a comparação entre os grupos PRP e PRPOT foi utilizado o teste não paramétricos de *Mann-Whitney* para todas as variáveis. As análises foram realizadas no *software GraphPad Prism*, versão 6.01. Para as conclusões das análises estatísticas foi utilizado o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

5 RESULTADOS

5.1 DADOS DEMOGRÁFICOS

Para a realização desse estudo, 31 participante foram recrutadas. Destas, 22 participantes foram selecionadas para entrar no estudo, de acordo com os critérios de inclusão e randomizadas em 2 grupos: PRP e PRPOT. Durante o período experimental, 1 participante foi excluída pois faltou em 2 sessões consecutivas e 1 por relatar desconforto no tratamento, como demonstrado no diagrama de fluxo (Figura 4).

Figura 4: Diagrama de fluxo das voluntárias recrutadas



Fonte: Autor, 2023.

As características demográficas das participantes estão apresentadas na tabela 1. As principais características das participantes do grupo PRP foram: idade média de 51,2 anos; fotótipos II (n = 3); III (n = 3) e IV (n = 4); Glogau II (n = 2), III (n = 6) e IV (n = 2); pele mista (n = 6); menopausa (n = 8); uso diário de protetor solar (n = 8); uso diário de hidratante fácil (n = 2); realização prévia de *pellings* (n = 0) e toxina botulínica (n = 0); contagem de plaquetas média de 314.600 uL. Já, as voluntárias do PRPOT apresentavam: idade média de 52,2 anos, fotótipos II (n = 4), III (n = 4) e IV

(n = 2), Glogau II (n = 2), III (n = 5) e IV (n = 3); pele mista (n = 7); menopausa (n = 8); uso diário de protetor solar (n = 7); uso diário de hidratante facial (n = 2); realização prévia de *pellings* (n = 0) e toxina botulínica (n = 0); contagem de plaquetas média de 320.500 uL, não havendo diferença estatística nos parâmetros avaliados.

Tabela 1 – Média de dados demográficos

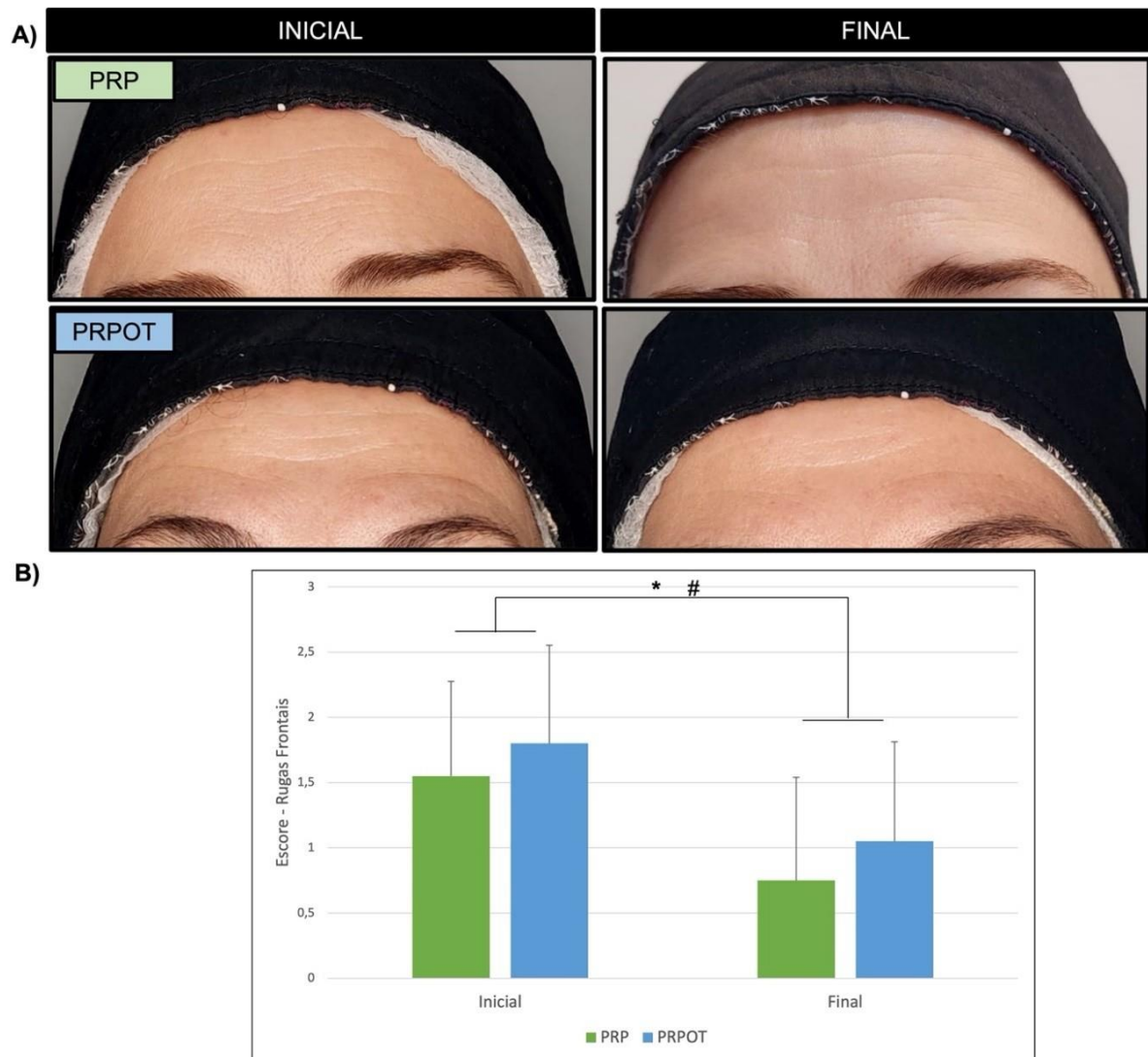
VARIÁVEIS	PRP	PRPOT
Escolaridade	6 Ensino Superior 4 Ensino Médio	7 Ensino Superior 3 Ensino Médio
Ciclo Menstrual	4 Normal 8 Menopausa	4 Normal 8 Menopausa
Gestações	8	9
Uso de Anticoncepcional	2	2
Outras medicações	4	5
Fumante	1	2
Tipo de pele	3 Seca 1 Oleosa 6 Mista	3 Seca 0 Oleosa 7 Mista
Escala de Glogau	2 Grau II 6 Grau III 2 Grau IV	2 Grau II 5 Grau III 3 Grau IV
Escala de <i>Fitzpatrick</i>	3 Fototipo II 3 Fototipo III 4 Fototipo IV	4 Fototipo II 4 Fototipo III 2 Fototipo IV
Uso diário de protetor solar	8 Sim 2 Não	7 Sim 3 Não
Uso diário de hidratante facial	2 Sim 8 Não	8 Sim 2 Não
Realização de <i>Pellings</i>	0 Sim 10 Não	0 Sim 10 Não
Realização de Toxina Botulínica	0 Sim 10 Não	0 Sim 10 Não

Fonte: Autor, 2023.

5.2 RUGAS FRONTAIS

Em relação a análise das rugas frontais, os resultados podem ser demonstrados na figura 5A. Com relação à avaliação inicial e final, observa-se que houve uma redução significativa da pontuação das rugas após os tratamentos em ambos os grupos experimentais, sendo 60,33 % de melhora no grupo PRP (*p = 0,0039) e 50 % no grupo PROT (# p = 0,0078; figura 5B). Entretanto, nenhuma diferença foi observada quando houve uma comparação entre os grupos avaliados.

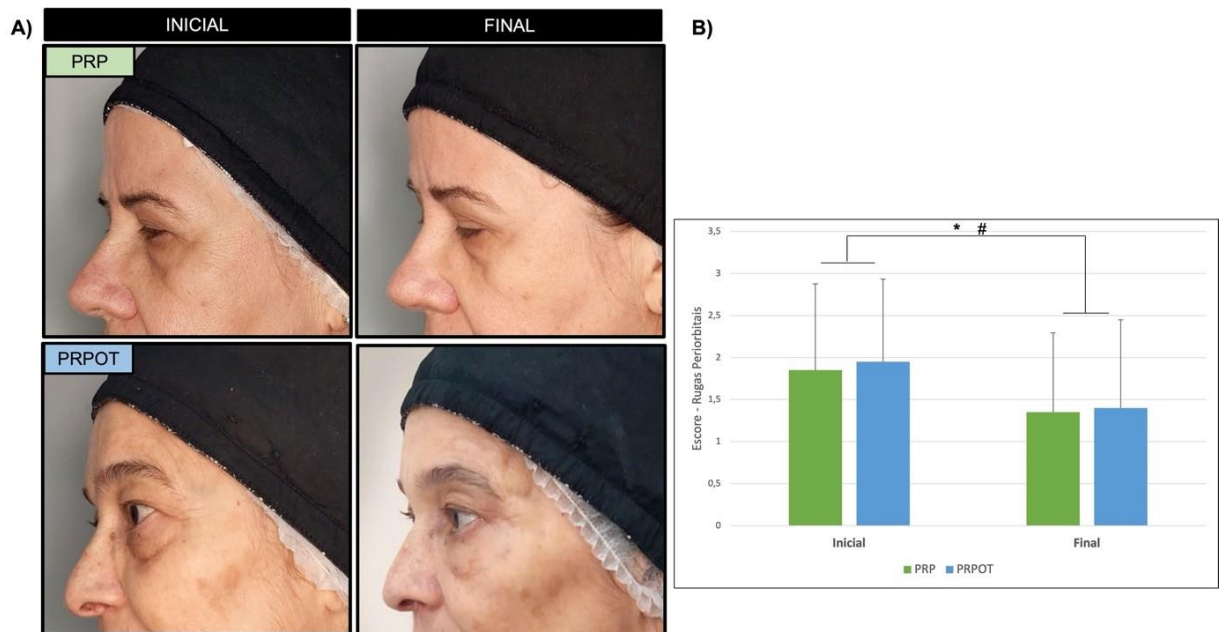
Figura 5: Figura representativa dos valores da avaliação das Rugas Frontais (Classificação de Rugas de WAS)



5.3 RUGAS PERIORBITAIS

As avaliações referentes a análise das rugas periorbitais estão demonstradas na figura 6A. A comparação inicial e final dos tratamentos mostrou que houve uma redução do escore após ambos os tratamentos, sendo 33,09 % de melhora no grupo PRP (* $p = 0,007$) e 38,33% (# $p < 0,007$) no PRPOT. Na análise entre os grupos não foi possível observar diferença estatística (figura 6B).

Figura 6: Figura representativa dos valores da avaliação das Rugas Periorbitais, (Classificação de Rugas de WAS)

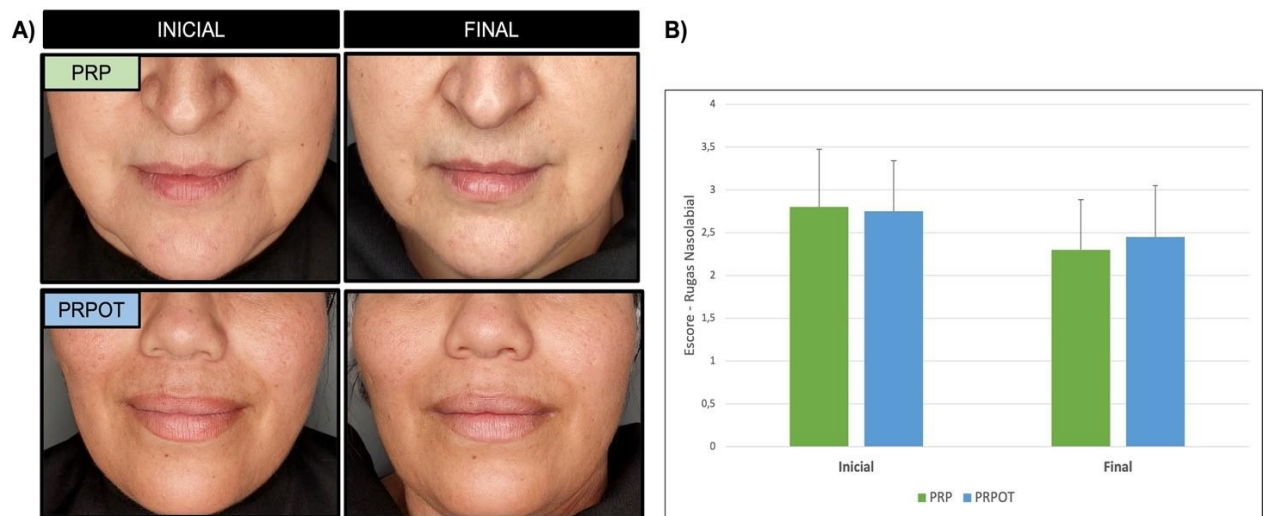


Grupo participantes submetidas ao tratamento de PRP (PRP); Grupo participantes submetidas ao tratamento da PRP associado à ozonioterapia; * $p = 0,007$ referente a comparação de PRP inicial vs PRP final (teste de *Wilcoxon*); # $p = 0,007$ referente a comparação de PRPOT inicial vs PRPOT final (teste de *Mann-Whitney*).

5.4 RUGAS NASOLABIAIS

O resultado as rugas nasolabiais estão representados na figura 7A. Não foi observado diferença nas avaliações iniciais e finais e nem entre os tratamentos (Figura 7B).

Figura 7: Figura representativo dos valores da avaliação das Rugas Nasolabiais, (Classificação de Rugas de WAS)

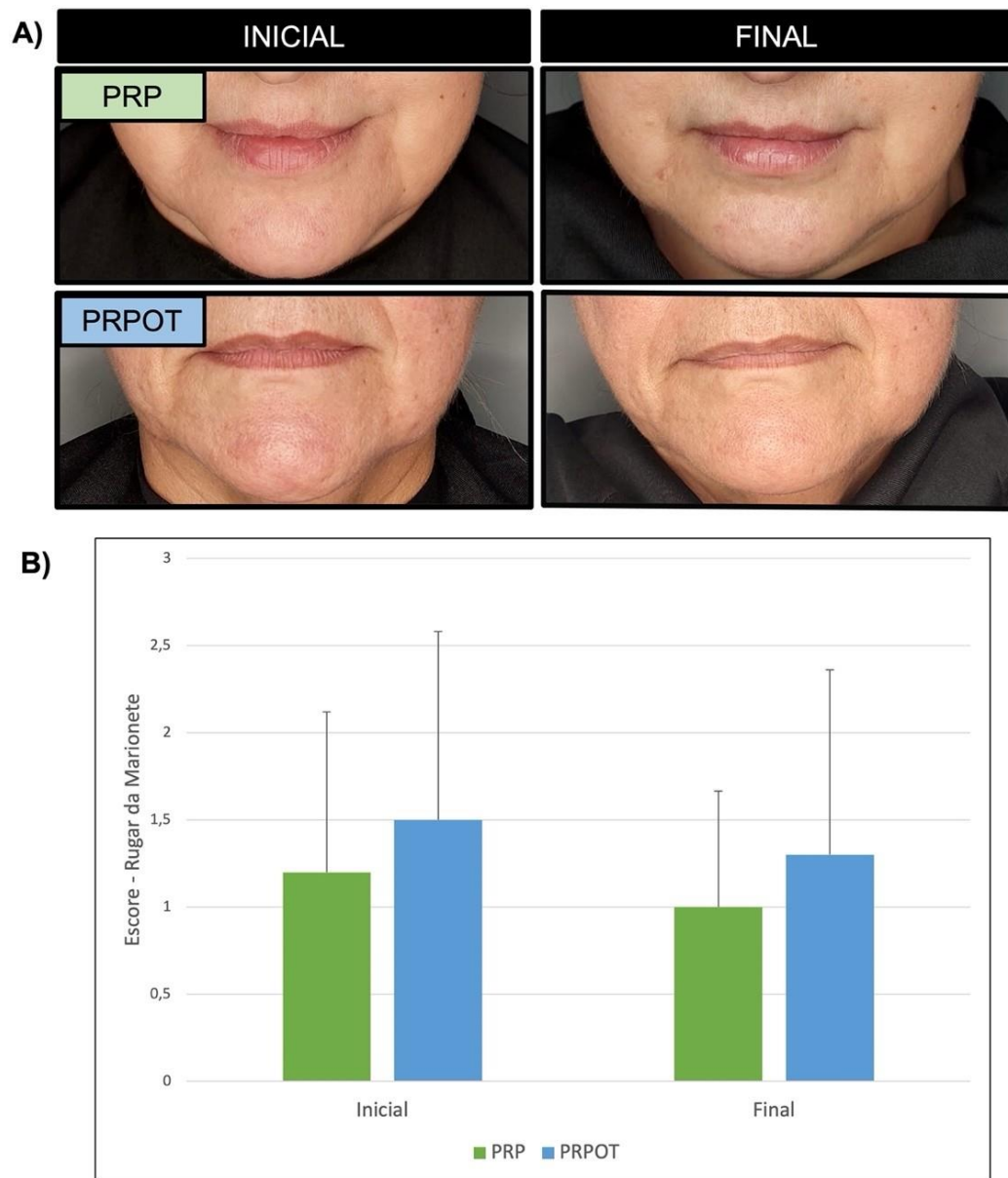


Grupo participantes submetidas ao tratamento de PRP (PRP); Grupo participantes submetidas ao tratamento da PRP associado à ozonioterapia.

5.5 RUGAS DA MARIONETE

As análises referentes as rugas da marionete encontram-se representado na figura 8A. Na análise estatística não foi possível observar diferença entre as avaliações iniciais e finais e nem entre os grupos experimentais (Figura 8B).

Figura 8: Figura representativo dos valores da avaliação das Rugas da Marionete, (Classificação de Rugas de WAS)

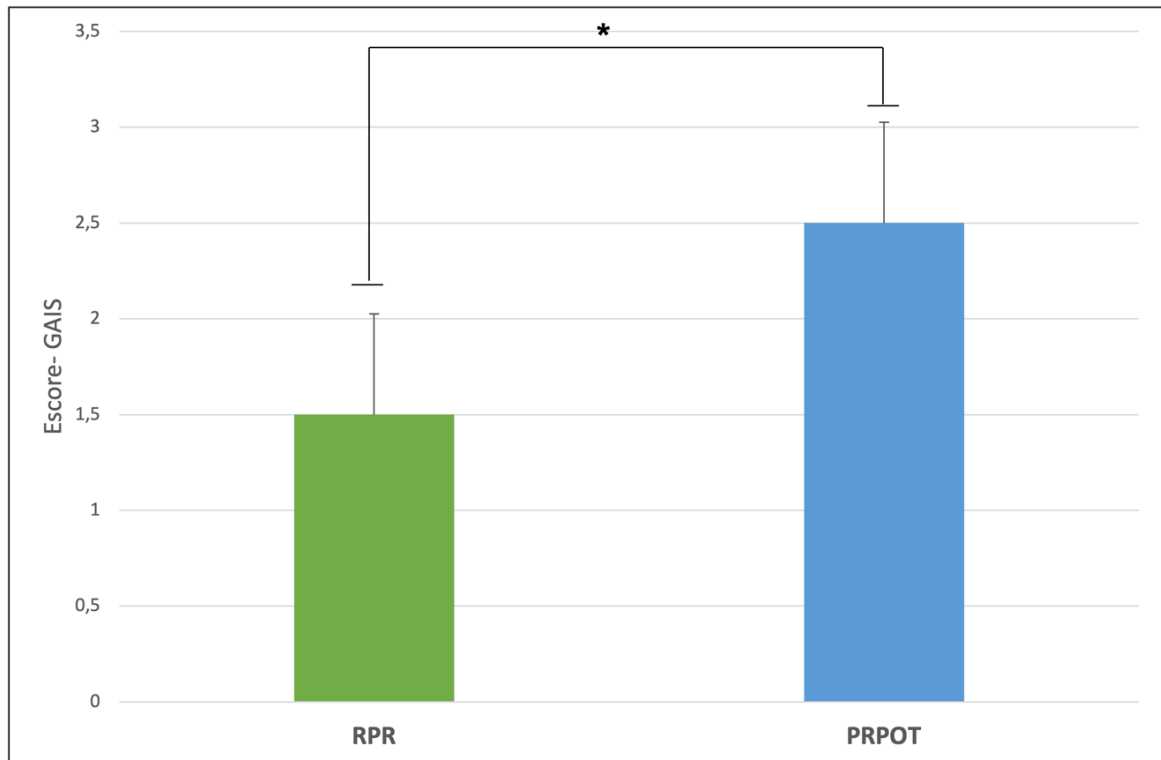


Grupo participantes submetidas ao tratamento de PRP (PRP); Grupo participantes submetidas ao tratamento da PRP associado à ozonioterapia.

5.6 RUGAS GLOBAIS

Os dados referentes a análise das rugas globais estão representados na figura 9. Na comparação entre os grupos experimentais observou-se um aumento no escore do grupo PRPOT quando comparado ao PRP (* $p < 0,0027$).

Figura 9: Valores da avaliação das Rugas Globais, (Escala de Melhora Estética Global- GAI)

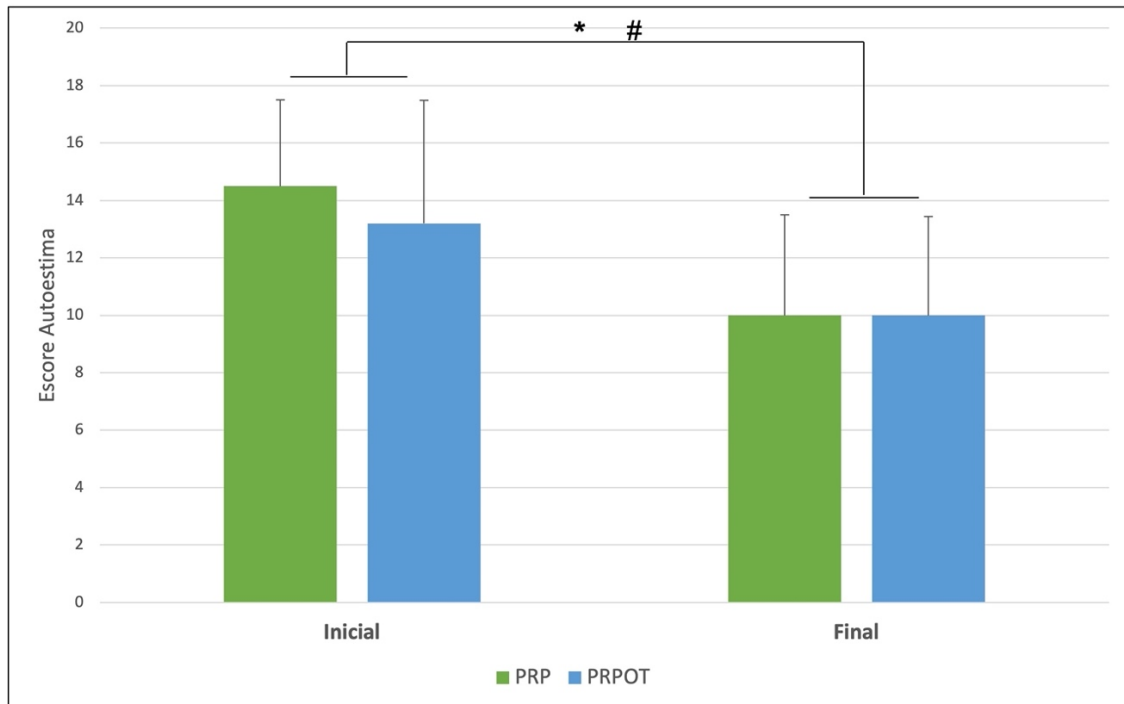


Grupo participantes submetidas ao tratamento de PRP (PRP); Grupo participantes submetidas ao tratamento da PRP associado à ozonioterapia; * $p = 0,0027$ referente a comparação de PRP vs PRPOT (teste de *Mann-Whitney*).

5.7 AVALIAÇÃO DA AUTOESTIMA

Os valores médios referente à avaliação da autoestima pode ser observado na figura 10. Com relação às comparações iniciais e finais dos tratamentos, a análise estatística mostrou uma redução no escore de ambos os tratamentos, sendo * $p < 0,0059$ no PRP e # $p = 0,039$ no grupo PRPOT. Na avaliação entre os grupos experimentais não foi possível observar diferença entre os tratamentos (Figura 10B).

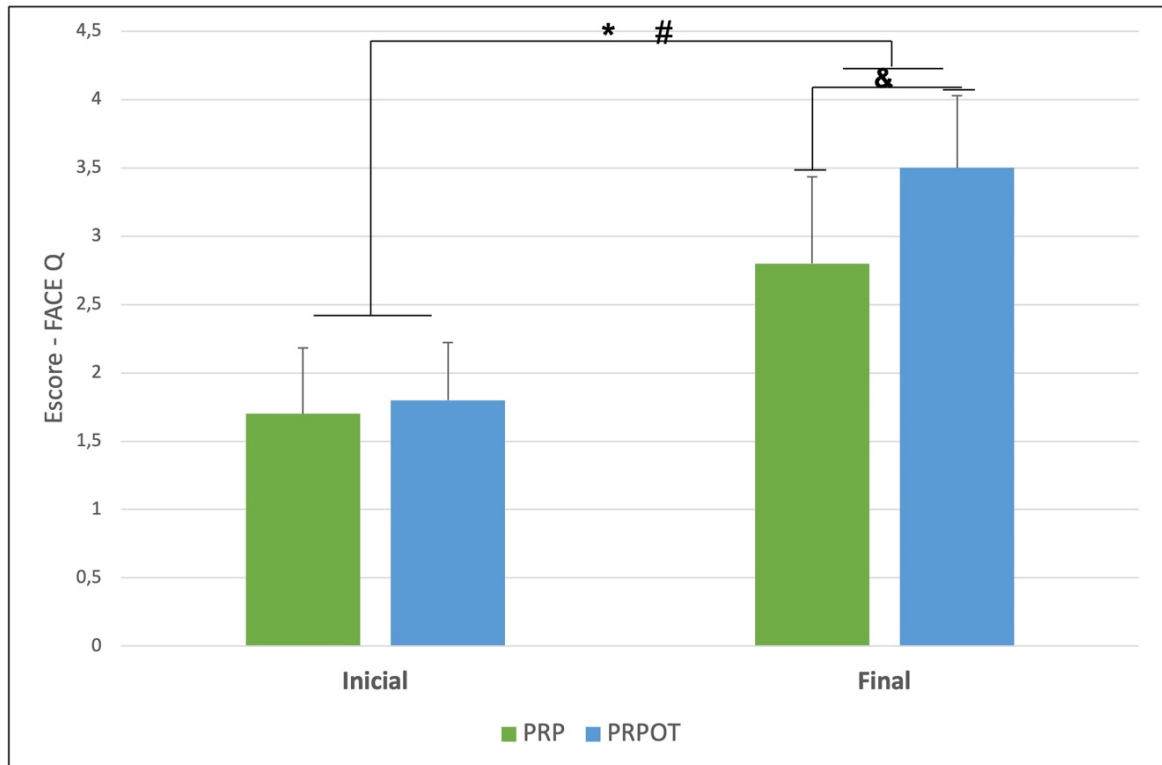
Figura 10: Valores da avaliação da Autoestima, (Versão Brasileira da Escala de Autoestima de Rosenberg)



Grupo participantes submetidas ao tratamento de PRP (PRP); Grupo participantes submetidas ao tratamento da PRP associado à ozonioterapia; * $p = 0,0059$ referente a comparação de PRP inicial vs PRP final (teste de *Wilcoxon*); # $p = 0,039$ referente a comparação de PRPOT inicial vs PRPOT final (teste de *Mann-Whitney*).

5.8 AVALIAÇÃO DA SATISFAÇÃO DO PACIENTE

As avaliações referentes a satisfação do paciente após o tratamento estão demonstradas na figura 11. Foi observado um aumento no escore após ambos os tratamentos quando houve a comparação da avaliação inicial e final dos tratamentos, sendo $0^* p = 0,007$ para o grupo PRP e # $p < 0,002$ no grupo PRPOT. Na análise entre os grupos observado um maior escore no grupo PRPOT quando comparado ao PRP (& $p < 0,038$).

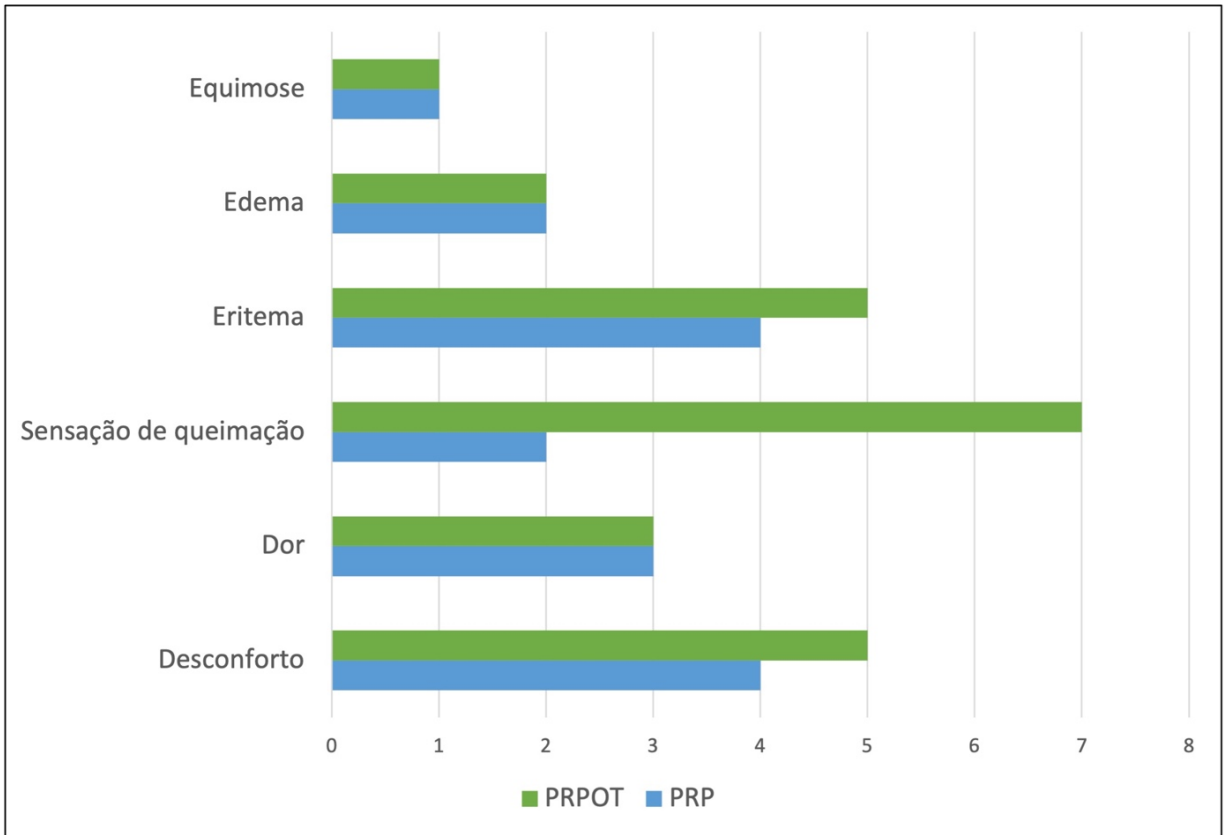
Figura 11: Valores da avaliação da Satisfação do Paciente (FACE-Q)

Grupo participantes submetidas ao tratamento de PRP (PRP); Grupo participantes submetidas ao tratamento da PRP associado à ozonioterapia; * $p = 0,007$ referente a comparação de PRP inicial vs PRP final (teste de *Wilcoxon*); # $p = 0,002$ referente a comparação de PRPOT inicial vs PRPOT final (teste de *Mann-Whitney*); & $p < 0,038$ referente a comparação de PRP vs PRPOT (teste de *Mann-Whitney*).

5.9 EFEITOS ADVERSOS

A figura 12 representa os efeitos adversos observado ao longo do tratamento. Foi possível observar sensação de desconforto, dor, queimação, eritema, edema e equimose. Todos os eventos foram acompanhados imediatamente após os tratamentos e por 3 dias consecutivos, sendo relatado eventos de grau leve, transitórios e que desaparecem em menos de dois dias em ambos os grupos. Apenas a sensação de queimação foi relatada com maior frequência no grupo PRPOT quando comparado com o PRP.

Figura 12: Avaliação referente aos efeitos adversos observados ao longo dos tratamentos



Grupo participantes submetidas ao tratamento de PRP (PRP); Grupo participantes submetidas ao tratamento da PRP associado à ozonioterapia;

6 DISCUSSÃO

O presente estudo teve a intenção de avaliar e comparar os efeitos e a segurança de um protocolo de PRP e de sua associação com a OT de volume controlado no envelhecimento da pele do rosto. Os principais resultados mostram que, tanto as voluntárias que receberam apenas o protocolo PRP, assim como as que receberam PRP associado ao OT de volume controlado, apresentaram redução nos aspectos das rugas frontais e periorbitais avaliado pelo WAS, melhora da autoestima no questionário de *Rosenberg* e aumento do escore de satisfação avaliado pelo questionário do FACE-Q e apresentaram efeitos adversos mínimos e transitórios. Entretanto, a maior redução das rugas globais e o maior escore de satisfação foram observados onde houve a combinação do PRP com a OT.

Como mencionando anteriormente, o envelhecimento cronológico e o fotoenvelhecimento resultam em mudanças na aparência da pele. Essas mudanças estão correlacionadas ao aumento crescente do interesse da população em procedimentos estéticos (LEE et al., 2021; PILKINGTON et al., 2021).

Diferentes opções de tratamento para o rejuvenescimento da pele estão disponíveis, entretanto ainda não são conclusivas e muitos apresentam várias limitações e efeitos adversos (LANDAU et al., 2017; ZOUBOULIS et al., 2019). Como opções de tratamento não farmacológico e minimamente invasivo para o rejuvenescimento da pele, as diretrizes de intervenções em Medicina Estética recomendam o uso PRP (LAUDAU et al., 2017) e, atualmente, na prática clínica a OT vem sendo fortemente recomendada (OLIVEIRA MODERNA et al., 2022).

A maioria dos estudos que avaliaram os efeitos do PRP no tratamento do envelhecimento da pele facial mostraram resultados encorajadores (JIMÉNEZ; GÓMEZ et al., 2018; DU et al., 2020), no entanto, até o momento, a qualidade geral das evidências observadas ainda é baixa e os resultados são muito variáveis. Isso provavelmente se dá ao uso de diferentes técnicas de preparo e aplicação do PRP utilizados nos estudos, o que podem influenciar significativamente a eficácia clínica do tratamento. Atualmente, não há um consenso sobre a melhor forma de preparo do PRP, assim como sobre o número aceito de sessões de tratamentos, ou intervalo de tratamento padronizado e respaldado na literatura. Além disso, a ausência de métricas de resultado objetivas e uniformes impede comparações entre estudos e limita a capacidade de tirar conclusões sobre a técnica. Portanto, esse estudo piloto avaliou a eficácia, segurança do tratamento e a satisfação relatada pelo participante de quatro

sessões de tratamento com PRP com intervalo de 15 dias entre as sessões, usando um método simples de preparação de PRP e facilmente reproduzível na prática clínica.

Para o preparo da técnica de PRP foi utilizado anticoagulante com o intuito de prevenir a coagulação *ex-vivo* e a secreção prematura de grânulos alfa (LIN et al., 2020). O sangue anticoagulado foi subsequentemente submetido a uma rotação suave (ou seja, velocidade mais lenta e curta duração) e a uma segunda centrifugação mais rígida (maior velocidade e curta duração) e não foi adicionado ativadores. De acordo com Evans et al., (2021), normalmente são realizadas 1 ou 2 centrifugações

para o preparo do PRP, podendo ou não ser adicionados substratos incluindo anticoagulantes e ativadores. A seleção das camadas de componentes do sangue é outra área de desvio de protocolo. O sobrenadante presente após a centrifugação pode ser dividido em uma porção mais baixa e mais densa, rica em plaquetas, denominada plasma rico em plaquetas (PRP) e uma porção mais alta, menos densa e pobre em plaquetas, denominada plasma pobre em plaquetas (PPP). Além disso, se o PRP incluir o "*buffy coat*" rico em leucócitos, o mesmo pode ser descrito como PRP rico em leucócitos (L-PRP), enquanto o PRP sem o revestimento leucocitário é chamado de pobre em leucócitos (P-PRP) (EVANS et al., 2021). Ressalta-se que até o momento atual, não há consenso sobre o uso do L-PRP versus P-PRP para aplicações dérmicas no tratamento do rejuvenescimento facial. No presente estudo utilizamos o L-PRP pois acreditamos que as células mononucleadas do sangue periférico (monócitos e linfócitos) possam otimizar o estímulo da regeneração dos tecidos da pele devido a liberação de importante citocinas que participam ativamente para dessa função (LANA et al., 2017). Ainda a escolha pela não adição de ativadores está baseado em estudos prévios que mostram que PRP autólogo não ativado pode usar colágeno dérmico do hospedeiro e trombina como ativadores endógenos (LIN et al, 2020), proporcionando assim a liberação a longo prazo dos fatores de crescimento.

Ademais, há uma carência na literatura de estudos que abordam os efeitos do PRP aplicada em associação com OT no rejuvenescimento da pele do rosto, comumente usada na prática clínica. De acordo com a literatura levantada, esse é o primeiro estudo que tem a intenção de comparar ambas as técnicas no que diz respeito à sua eficácia, bem como a segurança. Existe apenas um estudo na literatura que comparou a eficácia do tratamento com PRP ao tratamento com PRP associado a ozonioterapia em pacientes com osteoartrite de joelho de joelho com resultados promissores e sem efeitos adversos relatados (DERMEK et al., 2018).

De acordo com Csekes et al., (2021), os sinais clínicos que mais incomodam o paciente durante o processo de envelhecimento são o aparecimento das rugas, flacidez e alterações na pigmentação. Dessa forma, atenuar esses sinais continua sendo uma necessidade médica dermatológica primária em tratamentos dermatológicos estéticos (ZOUBOULIS et al., 2019). Está bem-conceituado que as manifestações clínicas da pele observadas com do envelhecimento intrínseco e extrínseco possui relação direta com a presença de um processo inflamatório crônica de baixo grau e à ativação de MMPs, responsáveis por causar danos persistentes nos componentes do tecido conjuntivo da derme, desencadeando o aparecimento de rugas dinâmicas e estáticas (LEE et al., 2021; PILKINGTON et al., 2021). Os dados referentes a avaliação das rugas do estudo mostraram que tanto o PRP isolado como associado ao OT, promoveram atenuação significativa das rugas frontais e periorbitais após 4 sessões de tratamento. Os efeitos positivos do protocolo do PRP podem ser explicados devido a ativação de uma alta concentração de diversos fatores de crescimento que conseqüentemente irão induzir o DNA das células dérmicas e expressão gênica correspondente (DU et al., 2020). Estudos *in vitro* e *in vivo* mostram que o PRP aumenta a expressão de colágeno, proteínas de remodelação da matriz, proliferação de fibroblastos e diferenciação em miofibroblastos (CHO et al., 2019; KUSHIDA et al., 2013; EMER, 2019; LIN et al., 2020). Ademais, a fibronectina e a vitronectina do PRP agregam-se aos fatores de crescimento liberados pelas plaquetas podendo atuar como um andaime para células e tecidos nascentes e promover a regeneração da pele danificada/envelhecida (PAVLOVIC et a., 2016). Em um estudo de revisão realizado por Evans et al. (2021), observou-se que o PRP exerce efeito na atenuação dos sinais decorrente do envelhecimento, indo de acordo com os dados observados no presente estudo. Ainda, Abuaf et al. (2016) verificaram, através de *punch* e análise histológica, que uma única aplicação de PRP intradérmico foi capaz de aumentar a densidade de fibras de colágeno e elastina em um período de 28 dias após tratamento. Os autores concluíram que o PRP aumentou os níveis de colágeno dérmico não apenas por meio de fatores de crescimento, mas também por agulhamento da pele (a técnica de mesoterapia).

Adicionalmente, o uso o uso do PRP em combinação com o OT interessantemente promoveu uma redução mais acentuada nas rugas globais quando houve a combinação dos estímulos. Pode ser encontrado na literatura apenas um ensaio clínico que obtiveram resultados satisfatórios na redução da atenuação das sinas do envelhecimento após tratamento com OT (LACERDA et al., 2020). A

literatura mostra que a OT pode ser capaz de ativar enzimas mitocondriais e possivelmente modular a biogênese mitocondrial, otimizando a função respiratória para atender às demandas de energia durante o processo de reparo tecidual. Além disso, várias enzimas antioxidantes estão sendo reguladas positivamente, resultando na diminuição de radicais livres, permitindo assim o reparo adequado dos tecidos (SCASSELLATI et al., 2020). Essas alterações metabólicas, e muitas ainda desconhecidas, podem facilitar o reparo da derme podem ser a força motriz para o tratamento adjuvante de muitas condições induzidas pela capacidade regenerativa prejudicada do tecido, como é o caso do envelhecimento. Ainda, vários tipos de fatores de crescimento podem ser ativados com o uso da OT, resultando na expressão de genes e na síntese de várias proteínas necessárias para a neocolagênese e angiogênese do tecido (ELVIS; EKTA, 2011; ZENG et al., 2019; LIU et al., 2022). Assim, a combinação de PRP com a OT pode ter produzido efeitos sinérgicos reparativos, levando a melhores resultados estéticos, como o maior escore da redução de rugas globais observada no presente estudo, inferindo o uso promissores no campo da dermatologia estética.

Além das alterações na aparência da pele (fisiológicas) que ocorrem com o envelhecimento, nesse período pode ocorrer mudanças psicológicas e sociais, que podem afetar a autoestima. Estudos mostram que na meia idade, embora a presença de flacidez e rugas seja natural, a cobrança imposta pela sociedade ainda determina a beleza física como padrão para a qualidade de vida e muitas mulheres se deparam com a baixa na autoestima, uma vez que esses fatores afetam a satisfação pessoal, corroborando com os dados observados no presente estudo (MEDEIRO et al, 2017; CHANG et al., 2019). Foi possível observar no presente estudo uma redução do escore da autoestima em ambos os tratamentos realizados.

Não podemos deixar de mencionar a importância do indicador satisfação com a aparência do paciente que foi submetido a um tratamento estético. O autorrelato do paciente também se faz necessário para os profissionais da dermatologia e estética, pois ajuda a definir a qualidade de sua prática, a eficácia da técnica ou até mesmo para determinar os custos das intervenções realizadas (FLEURY et al., 2018). A satisfação do paciente com o tratamento, as motivações e expectativas dos pacientes, são indicadores que atualmente tem sido levado em consideração na prática baseada em evidências (VANDERLEI; BOUMAN, 2018; KAPPOS et al., 2017; FLEURY et al., 2018). A escala FACE-Q foi utilizada no presente estudo e possui a finalidade de acumular conhecimento da perspectiva do paciente e aumentar a compreensão do que é um

procedimento estético bem-sucedido. (OTTENHOF et al 2022). Apesar de ser recente, a escala já foi utilizada em vários estudos (VANDERLEI; BOUMAN, 2018; KAPPOS et al., 2017; FLEURY et al., 2018; KAPPOS et al., 2017). Com relação os tratamentos realizados no presente estudo, ambos apresentaram melhora nos índices de satisfação. Ainda, é plausível descrever que o maior índice foi observado quando a OT foi usada como adjuvante ao PRP, corroborando a hipótese de que a associação do O₃ ao PRP pode ser consideradas uma terapêutica segura, confiável e eficaz no gerenciamento do envelhecimento facial.

A principal vantagem do uso do PRP é o caráter autólogo da preparação, como previamente descrito por Mehta et al, 2008, não havendo risco de reação imune e transmissão de microrganismos de outros doadores. Outra vantagem significativa do protocolo desenvolvido no presente estudo é o fato da simplicidade e rapidez do preparo (cerca de 30 min desde a retirada do sangue até sua aplicação), além do custo ser relativamente baixo (R\$ 45 reais por preparo). Ainda, o gerador de OT utilizado apresenta um sistema único de auto calibração, o que garante um ajuste automático do nível de oxigênio presente no cilindro externo, proporcionando maior confiabilidade no uso do volume e fluxo do equipamento, visto que o ozônio pode ser prejudicial quando configurado de maneira errônea. Ainda, cabe destacar que o gerador de ozônio utilizado no presente estudo possui um sistema único de auto calibração ao ser ligado, o que garante um ajuste automático do nível de oxigênio presente no cilindro externo, reduzindo os erros de fluxo e volume entregue ao PRP, proporcionando maior confiabilidade no uso do equipamento, visto que o ozônio pode ser prejudicial quando configurado de maneira errônea. Dessa forma é possível garantir maior segurança em relação aos níveis de volumes e concentrações reais utilizados durante a associação das terapias (informações técnicas - IBRAMED, Brasil).

O estudo vigente é o primeiro ensaio clínico a investigar a eficácia de um protocolo de PRP aplicada pela via intradérmica em pontos específicos da face associado a OT de volume controlado no tratamento do envelhecimento facial. Cabe destacar que não foram relatadas complicações maiores ou eventos adversos graves durante os tratamentos.

Nenhum efeito adverso grave foi observado em ambas as terapias durante ou após o tratamento, sendo apenas a sensação de queimação foi mais evidente no tratamento onde houve a associação das terapias, desaparecendo em menos de 24 horas. Sendo assim, a utilização da PRT associado a OT, apresentam ser terapias

eficazes e seguras e poderiam ser impostas como modalidades terapêuticas para o tratamento do rejuvenescimento facial, visto que é um método minimamente invasivo e apresenta custos relativamente baixos.

Cabe destacar que no presente estudo apresentou problemas e limitações. Embora o estudo tenha utilizado avaliadores clínicos cegos, o tamanho da amostra foi pequeno e o tempo experimental de 8 semanas foi curto. Dessa forma, existe a necessidade de darmos continuidade a esse estudo com o propósito de realizarmos um estudo clínico controlado e randomizado de longo prazo, como *follow-ups* previamente definido, e assim elucidarmos o potencial terapêutico das modalidades propostas para o tratamento do rejuvenescimento facial a longo prazo. Ainda, estudos futuros devem padronizar os protocolos de tratamento com PRP e PRP associado com OT para indicações clínicas específicas.

7 CONCLUSÃO

No presente estudo foi possível concluir que quatro sessões de um protocolo de PRP assim como sua associação com a OT de volume controlado mostraram ser tratamentos seguros e promissores no campo na dermatologia estética. O PRP usado de forma isolada ou em combinação com a OT foram capazes de reduzir as rugas frontais e periorbitais, entretanto a combinação das terapias evidenciou efeitos benéficos adicionais na melhora estética facial geral e satisfação do paciente. Este tipo de evidência clínica é necessário para o desenho de outros ensaios clínicos com intuito de elucidar os benefícios e limitações das técnicas.

REFERÊNCIAS

- ABUAF, O.K. et al. Histologic Evidence of New Collagen Formulation Using Platelet Rich Plasma in Skin Rejuvenation: A Prospective Controlled Clinical Study. **Ann Dermatol**. 2016 Dec;28(6):718-724. doi: 10.5021/ad.2016.28.6.718. Epub 2016 Nov 23. PMID: 27904271; PMCID: PMC5125953. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27904271/>. Acesso em: 28 ago. 2022.
- ALAM, M. et al. Effect of Platelet-Rich Plasma Injection for Rejuvenation of Photoaged Facial Skin: A Randomized Clinical Trial. **JAMA Dermatol**. 2018 Dec 1;154(12):1447-1452. doi: 10.1001/jamadermatol.2018.3977. PMID: 30419125; PMCID: PMC6583756. Disponível: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30419125/>. Acesso em: 15 ago. 2022.
- ALVES, R.; GRIMALT, R. A Review of Platelet-Rich Plasma: History, Biology, Mechanism of Action, and Classification. **Skin Appendage Disord**. 2018 Jan;4(1):18-24. doi: 10.1159/000477353. Epub 2017 Jul 6. PMID: 29457008; PMCID: PMC5806188. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29457008/>. Acesso em: 13 ago. 2022.
- ARACO, A. A prospective study comparing topic platelet-rich plasma vs. placebo on reducing superficial perioral wrinkles and restore dermal matrix. **J Cosmet Laser Ther**. 2019;21(6):309-315. doi: 10.1080/14764172.2019.1605448. Epub 2019 May 7. PMID: 31064236. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31064236/>. Acesso em: 20 ago. 2022.
- ARDA, O. GOKSUGUR, N. TUZUN, Y. Basic histological structure and functions of facial skin. **Clin Dermatol**. 2014 Jan-Feb;32(1):3-13. doi: 10.1016/j.clindermatol.2013.05.021. PMID: 24314373. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24314373/>. Acesso em: 23 ago. 2022.
- AUTIO, P. et al. Collagen synthesis in human skin in vivo: modulation by aging, ultraviolet B irradiation and localization. **Photodermatol Photoimmunol Photomed**. 1994 Oct;10(5):212-6. PMID: 7880761. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7880761/>. Acesso em: 22 ago. 2022.
- BOCCI V, Zanardi I, Travagli V. Ozone: a new therapeutic agent in vascular diseases. **Am J Cardiovasc Drugs**. 2011;11(2):73-82. doi: 10.2165/11539890-000000000-00000. PMID: 21446774.
- BOCCI V.; Borrelli E.; Travagli, V.; Zanardi I. The ozone paradox: Ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. **Med. Res. Rev**. 2009, 29, 646–682.
- BOCCI, V.A.; Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. **Arch. Med. Res**. 2006, 37, 425–435.
- CABRERA-RAMIREZ, J. O. et al. Platelet-Rich Plasma for the Treatment of Photodamage of the Skin of the Hands. **Actas Dermosifiliogr**. 2017 Oct;108(8):746-751. English, Spanish. doi: 10.1016/j.ad.2017.04.006. Epub 2017 Jun 16. PMID: 28625328. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28625328/>. Acesso em: 12 ago. 2022.

CAMELI, N. et al. Rejuvenation: Clinical, Instrumental, and Flow Cytometry Assessment. **Dermatol Surg.** 2017 Jun;43(6):826-835. doi: 10.1097/DSS.0000000000001083. PMID: 28375975. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28375975/>. Acesso em: 8 ago. 2022.

CAO, Y. et al. A narrative review of the research progress and clinical application of platelet-rich plasma. **Ann Palliat Med.** 2021 Apr;10(4):4823-4829. doi: 10.21037/apm-20-2223. Epub 2021 Mar 2. PMID: 33691459. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33691459/>. Acesso em: 17 ago. 2022.

CHANG, S. R.; YANG, C. F.; CHEN, K. H. Relationships between body image, sexual dysfunction, and health-related quality of life among middle-aged women: A cross-sectional study. **Maturitas.** 2019 Aug;126:45-50. doi: 10.1016/j.maturitas.2019.04.218. Epub 2019 Apr 23. PMID: 31239117. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31239117/>. Acesso em 12 ago. 2022.

CHO, E. B. et al. Effect of platelet-rich plasma on proliferation and migration in human dermal fibroblasts. **J Cosmet Dermatol.** 2019 Aug;18(4):1105-1112. doi: 10.1111/jocd.12780. Epub 2018 Oct 2. PMID: 30280483. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30280483/>. Acesso em: 23 ago. 2022.

CSEKES, E.; RACKOVÁ, L. Skin Aging, Cellular Senescence and Natural Polyphenols. **Int J Mol Sci.** 2021 Nov 23;22(23):12641. doi: 10.3390/ijms222312641. PMID: 34884444; PMCID: PMC8657738. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34884444/>. Acesso em: 14 ago. 2022.

DERNEK, B; KESIKTAS, F. N. Efficacy of combined ozone and platelet-rich-plasma treatment versus platelet-rich-plasma treatment alone in early stage knee osteoarthritis. **J Back Musculoskelet Rehabil.** 2019;32(2):305-311. doi: 10.3233/BMR-181301. PMID: 30452396. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30452396/>. Acesso em 12 ago. 2022.

DE SIRE A.; Agostini F.; Lippi L et al. Oxygen-Ozone Therapy in the Rehabilitation Field: State of the Art on Mechanisms of Action, Safety and Effectiveness in Patients with Musculoskeletal Disorders. **Biomolecules.** 2021;11(3):356. Published 2021 Feb 26. Disponível em:doi:10.3390/biom11030356. Acesso em: 20 nov. 2021

DI FILIPPO, C. et al. Acute oxygen-ozone administration to rats protects the heart from ischemia reperfusion infarct. **Inflamm Res.** 2008 Oct;57(10):445-9. doi: 10.1007/s00011-008-7237-0. PMID: 18827966. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18827966/>. Acesso em: 3 ago. 2022.

DI PAOLO N, Bocci V, Gaggiotti E. Ozone therapy. **Int J Artif Organs.** 2004 Mar;27(3):168-75. doi: 10.1177/039139880402700303. PMID: 15112882.

DÍAS-LEY, B. et al. Benefits of plasma rich in growth factors (PRGF) in skin photodamage: clinical response and histological assessment. **Dermatol Ther.** 2015 Jul-Aug;28(4):258-63. doi: 10.1111/dth.12228. Epub 2015 Apr 10. PMID: 25864463. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25864463/>. Acesso em: 29 ago. 2022.

DINI, G. M.; QUARESMA, M. R. FERREIRA, L. M. Adaptação Cultural e Validação da Versão Brasileira da escala de Auto-estima de Rosenberg. **RevSocBrasCirPlastv.** 2004; 19(1):41-54. Disponível em: <http://www.rbc.org.br/details/322/pt-BR/adaptacao-cultural-e-validacao-da-versao-brasileira-da-escala-de-auto-estima-de-rosenberg>. Acesso em 20 ago. 2022.

DRAELOS, Z. D. et al. Pilot study: Autologous platelet-rich plasma used in a topical cream for facial rejuvenation. **J Cosmet Dermatol.** 2019 Jul 26;18(5):1348–52. doi: 10.1111/jocd.13088. Epub ahead of print. PMID: 31350798; PMCID: PMC6852537. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31350798/>. Acesso em: 16 ago. 2022.

DU, R.; LEI, T. Effects of autologous platelet-rich plasma injections on facial skin rejuvenation. **Exp Ther Med.** 2020 Apr;19(4):3024-3030. doi: 10.3892/etm.2020.8531. Epub 2020 Feb 17. PMID: 32256789; PMCID: PMC7086200. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32256789/>. Acesso em: 11 ago. 2022.

EL-DOMYATI, M. ABDEL-WAHAB, H. HOSSAM, A. Combining microneedling with other minimally invasive procedures for facial rejuvenation: a split-face comparative study. **Int J Dermatol.** 2018 Nov;57(11):1324-1334. doi: 10.1111/ijd.14172. Epub 2018 Aug 13. PMID: 30105816. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30105816/>. Acesso em: 13 ago. 2022.

ELNEHARWY, N. Y. et al. Assessment of the efficacy and safety of single platelet-rich plasma injection on different types and grades of facial wrinkles. **J Cosmet Dermatol.** 2017 Mar;16(1):103-111. doi: 10.1111/jocd.12258. Epub 2016 Jul 29. PMID: 27474688. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27474688/>. Acesso em: 20 ago. 2022.

ELVIS, A.M.; EKTA, J.S. Ozone therapy: A clinical review. **J. Nat. Sci. Biol. Med.** 2011, 2, 66–70.

EPPLEY, B. L. ; WOODSELL, J. E. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. **Plast Reconstr Surg.** 2004 Nov;114(6):1502-8. doi: 10.1097/01.prs.0000138251.07040.51. PMID: 15509939. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15509939/>. Acesso em: 17 ago. 2022.

EVANS, A. G. et al. Rejuvenating the periorbital area using platelet-rich plasma: a systematic review and meta-analysis. **Arch Dermatol Res.** 2021 Nov;313(9):711-727. doi: 10.1007/s00403-020-02173-z. Epub 2021 Jan 12. PMID: 33433716. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33433716/>. Acesso em 13 ago. 2022.

EVERTS, P. A.; PINTO, P. C.; GIRÃO, L. Autologous pure platelet-rich plasma injections for facial skin rejuvenation: Biometric instrumental evaluations and patient-reported outcomes to support antiaging effects. **J Cosmet Dermatol.** 2019 Aug;18(4):985-995. doi: 10.1111/jocd.12802. Epub 2018 Oct 23. PMID: 30350908. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30350908/>. Acesso em: 19 ago. 2022.

FARAGE, M. A. et al. Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review. **Int J Cosmet Sci.** 2008 Apr;30(2):87-95. doi: 10.1111/j.1468-2494.2007.00415.x. PMID: 18377617. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18377617/>. Acesso em: 18 ago. 2022.

FLEURY, C. M. et al. Adverse Event Incidences following Facial Plastic Surgery Procedures: Incorporating FACE-Q Data to Improve Patient Preparation. *Plast Reconstr Surg.* 2018 Jan;141(1):28e- 33e. doi: 10.1097/PRS.0000000000003962. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29280862/>. Acesso em: 23 ago. 2022.

GAWDAT, H. I. et al. Autologous platelet-rich plasma versus readymade growth factors in skin rejuvenation: A split face study. *J Cosmet Dermatol.* 2017 Jun;16(2):258-264. doi: 10.1111/jocd.12341. Epub 2017 Apr 5. PMID: 28382785. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28382785/>. Acesso em: 19 ago. 2022.

HASEGAWA, T. et al. Reduction in Human Epidermal Langerhans Cells with Age Is Associated with Decline in CXCL14-Mediated Recruitment of CD14⁺ Monocytes. *J Invest Dermatol.* 2020 Jul;140(7):1327-1334. doi: 10.1016/j.jid.2019.11.017. Epub 2019 Dec 25. PMID: 31881212; PMCID: PMC8142052. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31881212/>. Acesso em: 28 ago. 2022.

HAYFLICK, L.; MOORHEAD, P. S. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res.* 1961 Dec;25:585-621. doi: 10.1016/0014-4827(61)90192-6. PMID: 13905658. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13905658/>. Acesso em: 16 ago. 2022.

HESSELER, M. J.; SHYAM, N. Platelet-rich plasma and its utility in medical dermatology: A systematic review. *J Am Acad Dermatol.* 2019 Sep;81(3):834-846. doi: 10.1016/j.jaad.2019.04.037. Epub 2019 Apr 19. PMID: 31009668. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31009668/>. Acesso em: 17 ago. 2022.

HIEBERT, P. et al. Activation of Nrf2 in fibroblasts promotes a skin aging phenotype via an Nrf2-miRNA-collagen axis. *Matrix Biol.* 2022 Nov;113:39-60. doi: 10.1016/j.matbio.2022.09.002. Epub 2022 Sep 20. PMID: 36367485. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36367485/>. Acesso em: 29 ago. 2022.

HUGHES, B.K.; BISHOP, C. L. Current Understanding of the Role of Senescent Melanocytes in Skin Ageing. *Biomedicines.* 2022 Dec 2;10(12):3111. doi: 10.3390/biomedicines10123111. PMID: 36551868; PMCID: PMC9775966. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36551868/>. Acesso em: 19 ago. 2022.

HUI, Q. et al. The Clinical Efficacy of Autologous Platelet-Rich Plasma Combined with Ultra-Pulsed Fractional CO₂ Laser Therapy for Facial Rejuvenation. *Rejuvenation Res.* 2017 Feb;20(1):25-31. doi: 10.1089/rej.2016.1823. Epub 2016 Jun 23. PMID: 27222038; PMCID: PMC5314998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27222038/>. Acesso em: 30 ago. 2022.

JIMÉNEZ, G. N. et al. Autologous platelet-rich gel for facial rejuvenation and wrinkle amelioration: A pilot study. *J Cosmet Dermatol.* 2018 Nov 18. doi: 10.1111/jocd.12823. Epub ahead of print. PMID: 30450677. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30450677/>. Acesso em: 12 ago. 2022.

KAPPOS, E. A. et al. Validating Facial Aesthetic Surgery Results with the FACE-Q. *Plast Reconstr Surg.* 2017, 139:4. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28002252/>. Acesso em: 12 ago. 2022.

KHAVKIN, J.; ELLIS, D. A. Aging skin: histology, physiology, and pathology. **Facial Plast Surg Clin North Am.** 2011 May;19(2):229-34. doi: 10.1016/j.fsc.2011.04.003. PMID: 21763983. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21763983/>. Acesso em: 14 ago. 2022.

KIDUCHI, N. et al. Optimization of leukocyte-poor platelet-rich plasma preparation: a validation study of leukocyte-poor platelet-rich plasma obtained using different preparer, storage, and activation methods. **J Exp Orthop.** 2019 Jun 3;6(1):24. doi: 10.1186/s40634-019-0190-8. PMID: 31161535; PMCID: PMC6546777. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31161535/>. Acesso em 13 ago. 2022.

KIM, D. H. et al. Can Platelet-rich Plasma Be Used for Skin Rejuvenation? Evaluation of Effects of Platelet-rich Plasma on Human Dermal Fibroblast. **Ann Dermatol.** 2011 Nov;23(4):424-31. doi: 10.5021/ad.2011.23.4.424. Epub 2011 Nov 3. PMID: 22148008; PMCID: PMC3229934. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22148008/>. Acesso em: 22 ago. 2022.

KIM, H. GALLO, J. Evaluation of the effect of platelet-rich plasma on recovery after ablative fractional photothermolysis. **JAMA Facial Plast Surg.** 2015 Mar-Apr;17(2):97-102. doi: 10.1001/jamafacial.2014.1085. Erratum in: JAMA Facial Plast Surg. 2015 Mar-Apr;17(2):155. PMID: 25429396. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25429396/>. Acesso em: 13 ago. 2022.

KLASSEN, A. F.; CANO, S. J.; PUSIC, A. L. FACE-Q satisfaction with appearance scores from close to 1000 facial aesthetic patients. **Plast Reconstr Surg.** 2016;137:651e–652e. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26910721/>. Acesso em: 17 ago. 2022.

KRUTMANN, J. et al. The skin aging exposome. **J Dermatol Sci.** 2017 Mar;85(3):152-161. doi: 10.1016/j.jdermsci.2016.09.015. Epub 2016 Sep 28. PMID: 27720464. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27720464/>. Acesso em: 30 ago. 2022.

KRUTMANN, J. et al. Environmentally-Induced (Extrinsic) Skin Aging: Exposomal Factors and Underlying Mechanisms. **J Invest Dermatol.** 2021 Apr;141(4S):1096-1103. doi: 10.1016/j.jid.2020.12.011. Epub 2021 Feb 1. PMID: 33541724. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33541724/>. Acesso em: 13 ago. 2022.

KUSHIDA, S. et al. Effects of platelet-rich plasma on proliferation and myofibroblastic differentiation in human dermal fibroblasts. **Ann Plast Surg.** 2013 Aug;71(2):219-24. doi: 10.1097/SAP.0b013e31823cd7a4. PMID: 23038148. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23038148/>. Acesso em: 17 ago. 2022.

LACERDA, A. C. et al. Efficacy of biostimulatory ozone therapy: Case report and literature review. **J Cosmet Dermatol.** 2022 Jan;21(1):130-133. doi: 10.1111/jocd.14079. Epub 2021 Mar 28. PMID: 33738907. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33738907/>. Acesso em: 19 ago. 2022.

LANA, J. F. S. D. et al. Contributions for classification of platelet rich plasma - proposal of a new classification: MARSPILL. **Regen Med.** 2017 Jul;12(5):565-574. doi: 10.2217/rme-2017-0042. Epub 2017 Jul 31. PMID: 28758836. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28758836/>. Acesso em: 12 ago. 2022.

LANDAU, M. et al. First Consensus on Primary Prevention and Early Intervention in Aesthetic Medicine. **J Drugs Dermatol**. 2017 Sep 1;16(9):846-854. PMID: 28915279. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28915279/>. Acesso em: 19 ago. 2022.

LEE, Y. I. et al. Cellular Senescence and Inflammaging in the Skin Microenvironment. **Int J Mol Sci**. 2021 Apr 8;22(8):3849. doi: 10.3390/ijms22083849. PMID: 33917737; PMCID: PMC8068194. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33917737/>. Acesso em: 21 ago. 2022.

LEE, Z. H. et al. Platelet rich plasma for photodamaged skin: A pilot study. **J Cosmet Dermatol**. 2019 Feb;18(1):77-83. doi: 10.1111/jocd.12676. Epub 2018 May 31. PMID: 29855132. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29855132/>. Acesso em: 24 ago. 2022.

LEMPERLE, G. et al. A Classification of Facial Wrinkles. **Plast Reconstr Surg**. November 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11711957/>. Acesso em: 23 ago. 2022.

LIN, M. Y. et al. Progress in the Use of Platelet-rich Plasma in Aesthetic and Medical Dermatology. **J Clin Aesthet Dermatol**. 2020 Aug;13(8):28-35. Epub 2020 Aug 1. PMID: 33178379; PMCID: PMC7595356. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33178379/>. Acesso em: 28 ago. 2022.

LIU, L. et al. Ozone therapy for skin diseases: Cellular and molecular mechanisms. **Int Wound J**. 2022 Dec 16. doi: 10.1111/iwj.14060. Epub ahead of print. PMID: 36527235. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36527235/>. Acesso em: 07 ago. 2022.

MARX, R. E. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? **Implant Dent**. 2001;10(4):225-8. doi: 10.1097/00008505-200110000-00002. PMID: 11813662. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11813662/>. Acesso em: 17 ago. 2022.

MEHRYAN, P. et al. Assessment of efficacy of platelet-rich plasma (PRP) on infraorbital dark circles and crow's feet wrinkles. **J Cosmet Dermatol**. 2014 Mar;13(1):72-8. doi: 10.1111/jocd.12072. PMID: 24641609. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24641609/>. Acesso em: 27 ago. 2022.

MEHTA, S.; WATSON, J. T. Platelet rich concentrate: basic science and current clinical applications. **J Orthop Trauma**. 2008 Jul;22(6):432-8. doi: 10.1097/BOT.0b013e31817e793f. PMID: 18594311. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18594311/>. Acesso em: 22 ago. 2022.

MORAIS, M. S. et al. Does body image perception relate to quality of life in middle-aged women? **PLoS One**. 2017 Sep 19;12(9):e0184031. doi: 10.1371/journal.pone.0184031. PMID: 28926575; PMCID: PMC5604940. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28926575/>. Acesso em: 30 ago. 2022.

NIKOLAKIS, G.; MAKRANTONAKI, E.; ZOUBOULIS, C. C. Skin mirrors human aging. **Horm Mol Biol Clin Investig**. 2013 Dec;16(1):13-28. doi: 10.1515/hmbci-2013-0018. PMID: 25436743. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25436743/>. Acesso em: 12 ago. 2022.

NOFAL, E. et al. Platelet-rich plasma versus CROSS technique with 100% trichloroacetic acid versus combined skin needling and platelet rich plasma in the treatment of atrophic acne scars: a comparative study. **Dermatol Surg**. 2014 Aug;40(8):864-73. doi: 10.1111/dsu.0000000000000091. PMID: 25006854. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25006854/>. Acesso em: 18 ago. 2022.

OLIVEIRA, M. D. A. et al. Ozone Therapy for Dermatological Conditions: **A Systematic Review**. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2022 May;15(5):65-73. PMID: 35642231; PMCID: PMC9122276. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35642231/>. Acesso em: 30 ago. 2022.

OTTENHOF, M. J. et al. The Use of the FACE-Q Aesthetic: A Narrative Review. *Aesthetic Plast Surg*. 2022 Dec;46(6):2769-2780. doi: 10.1007/s00266-022-02974-9. Epub 2022 Jun 28. PMID: 35764813; PMCID: PMC9729314. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35764813/>. Acesso em: 17 ago. 2022.

PAVLOVIC, V. et al. Platelet Rich Plasma: a short overview of certain bioactive components. **Open Med (Wars)**. 2016 Aug 12;11(1):242-247. doi: 10.1515/med-2016-0048. PMID: 28352802; PMCID: PMC5329835. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28352802/>. Acesso em: 17 ago. 2022.

PILKINGYON, S. M. et al. Inflammaging and the Skin. **J Invest Dermatol**. 2021 Apr;141(4S):1087-1095. doi: 10.1016/j.jid.2020.11.006. Epub 2021 Jan 7. PMID: 33358020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33358020/>. Acesso em: 19 ago. 2022.

REDAELLI, A.; ROMANO, D.; MARCIANÓ, A. Face and neck revitalization with platelet-rich plasma (PRP): clinical outcome in a series of 23 consecutively treated patients. **J Drugs Dermatol**. 2010 May;9(5):466-72. PMID: 20480789. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20480789/>. Acesso em: 12 ago. 2022.

RE; L. et al. Is ozone pre-conditioning effect linked to Nrf2/EpRE activation pathway in vivo? A preliminary result. **European Journal of Pharmacology**, 742, 158–162. 2014. doi:10.1016/j.ejphar.2014.08.029. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25218903/>. Acesso em: 12 ago. 2022.

SAGAI, M.; Bocci, V. Mechanisms of Action Involved in Ozone Therapy: Is healing induced via a mild oxidative stress? **Med. Gas Res**. 2011, 1, 29. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22185664/>. Acesso em: 12 ago. 2022.

SCASSELLATI, C. et al. Ozone: a natural bioactive molecule with antioxidant property as potential new strategy in aging and in neurodegenerative disorders. **Ageing Res Rev**. 2020 Nov;63:101138. doi: 10.1016/j.arr.2020.101138. Epub 2020 Aug 15. PMID: 32810649; PMCID: PMC7428719. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32810649/>. Acesso em: 17 ago. 2022.

SCLAFANI, A. P. Platelet-rich fibrin matrix for improvement of deep nasolabial folds. **J Cosmet Dermatol**. 2010 Mar;9(1):66-71. doi: 10.1111/j.1473-2165.2010.00486.x.

PMID: 20367676. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20367676/>. Acesso em: 18 ago. 2022.

SEVILLA, G. P. et al. Safety and Efficacy of Growth Factor Concentrate in the Treatment of Nasolabial Fold Correction: Split Face Pilot Study. **Indian J Dermatol.** 2015 Sep-Oct;60(5):520. doi: 10.4103/0019-5154.159628. PMID: 26538718; PMCID: PMC4601439. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26538718/>. Acesso em: 12 ago. 2022.

SHIN, M.K. et al. Platelet-rich plasma combined with fractional laser therapy for skin rejuvenation. **Dermatol Surg.** 2012 Apr;38(4):623-30. doi: 10.1111/j.1524-4725.2011.02280.x. Epub 2012 Jan 30. PMID: 22288389. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22288389/>. Acesso em: 19 ago. 2022.

SMITH, N.L.; Wilson, A.L.; Gandhi, J.; Vatsia, S.; Khan, S.A. Ozone therapy: An overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility. **Med. Gas Res.** 2017, 7, 212–219.

THON, J. N.; ITALIANO, J. E. Platelets: production, morphology and ultrastructure. **Handb Exp Pharmacol.** 2012;(210):3-22. doi: 10.1007/978-3-642-29423-5_1. PMID: 22918725. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22918725/>. Acesso em: 17 ago. 2022.

TRAVAGLI, V. et al. Ozone and ozonated oils in skin diseases: a review. **Mediators Inflamm.** 2010;2010:610418. doi: 10.1155/2010/610418. Epub 2010 Jul 4. PMID: 20671923; PMCID: PMC2910505. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20671923/>. Acesso em: 16 ago. 2022.

VAN DER LEI B, BOUMAN T. Validating Facial Aesthetic Surgery Results with the FACE-Q. **Plast Reconstr Surg.** 2018 Jan;141(1):184e-5e. doi: 10.1097/PRS.0000000000003987.

WANG, Y. et al. NF- κ B signaling in skin aging. **Mech Ageing Dev.** 2019 Dec;184:111160. doi: 10.1016/j.mad.2019.111160. Epub 2019 Oct 18. PMID: 31634486. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31634486/>. Acesso em: 22 ago. 2022.

WHITE, C. et al. Platelet-Rich Plasma: A Comprehensive Review of Emerging Applications in Medical and Aesthetic Dermatology. **J Clin Aesthet Dermatol.** 2021 Nov;14(11):44-57. PMID: 34980960; PMCID: PMC8675348. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34980960/>. Acesso em: 13 ago. 2022.

WYSOCKI, A. B. A review of the skin and its appendages. **Adv Wound Care.** 1995 Mar-Apr;8(2 Pt 1):53-4, 56-62, 64 passim. Erratum in: *Adv Wound Care* 1995 Jul-Aug;8(4):8. PMID: 7795875. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7795875/>. Acesso em: 25 ago. 2022.

ZENG, J.; LU, J. Mechanisms of action involved in ozone-therapy in skin diseases. **Int Immunopharmacol.** 2018 Mar;56:235-241. doi: 10.1016/j.intimp.2018.01.040. Epub 2018 Feb 3. PMID: 29414657. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29414657/>. Acesso em: 25 ago. 2022.

ZOUBOULIS, C. C. et al. Aesthetic aspects of skin aging, prevention, and local treatment. **Clin Dermatol.** 2019 Jul-Aug;37(4):365-372. doi: 10.1016/j.clindermatol.2019.04.002. Epub 2019 Apr 26. PMID: 31345325. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31345325/>. Acesso em: 22 ago. 2022.

ANEXO I – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



UNIVERSIDADE BRASIL



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: REJUVENESCIMENTO DA PELE: USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP) E SUA ASSOCIAÇÃO COM OZONIOTERAPIA.

Pesquisador: CARLA LUCIA DE CAMARGO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 57822622.3.0000.5494

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE BRASIL

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.450.657

Apresentação do Projeto:

Trata-se de análise de resposta ao parecer pendente nº5.413.021 emitido pelo CEP em 17/05/2022. Ver campo “Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações” para o parecer desta versão.

Objetivo da Pesquisa:

Trata-se de análise de resposta ao parecer pendente nº5.413.021 emitido pelo CEP em 17/05/2022. Ver campo “Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações” para o parecer desta versão.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Trata-se de análise de resposta ao parecer pendente nº5.413.021 emitido pelo CEP em 17/05/2022. Ver campo “Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações” para o parecer desta versão.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de análise de resposta ao parecer pendente nº5.413.021 emitido pelo CEP em 17/05/2022. Ver campo “Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações” para o parecer desta versão.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Trata-se de análise de resposta ao parecer pendente nº5.413.021 emitido pelo CEP em

Endereço: Rua Carolina Fonseca, 235, térreo, Secretaria Acadêmica, Sala 2
Bairro: ITAQUERA **CEP:** 08.230-030
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)4858-9224 **Fax:** (11)2070-0000 **E-mail:** comite.etica.sp@universidadebrasil.edu.br

ANEXO II - Formulário de dados

Data: ___/___/___ **Horário:** _____ **Nº:** _____ **Grupo:** _____

DADOS PESSOAIS

Nome: _____

Data de Nascimento: ___/___/___ **Idade:** _____

Estado civil: () solteira () casada () viúva () união estável

Escolaridade: () fundamental incompleto () fundamental completo () médio incompleto
() médio completo () técnico incompleto () técnico completo () superior incompleto
() superior completo

Ocupação: _____ **Telefone:** _____

Endereço: _____ **Cidade:** _____

E-mail: _____

HISTÓRICO MÉDICO

Ciclo menstrual: () presente () ausente **Ciclo (dias):** _____

Utiliza anticoncepcional?:() sim () não **Qual?:** _____

Gestações:() sim () não **Quantas?:** _____ **Quando?:** _____

Faz uso de alguma medicação periodicamente?: _____

Medicamentos que podem produzir efeitos de fotossensibilidade: antibiótico, anticonvulsivos, diuréticos, ansiolíticos, sulfas e ácidos (uso externo).

Realiza atividades físicas/exercícios regularmente?:() sim () não

Qual?: _____ **Duração:** _____ **Frequência:** _____

Fuma ou já fumou? () não () sim **Quantos cigarros/dia:** _____

Contra-Indicações?:() problemas cardíacos (cardiopatas congestivos, uso de marca passo, outros), () gestação, () processos bacterianos e infecções agudas, () neoplasias e processos tumorais, () portadores de epilepsia () não

HISTÓRICO DERMATOLÓGICO

Tipo de pele:() normal() seca () mista () oleosa () acnéica

Faz uso de protetor solar: () sempre / diariamente () frequentemente () às vezes () em dias ensolarados() quando se expõe ao sol diretamente (praia, piscina, etc.) () nunca

Fator de proteção: _____

Faz uso de maquiagem?() sempre / diariamente () frequentemente () às vezes () nunca

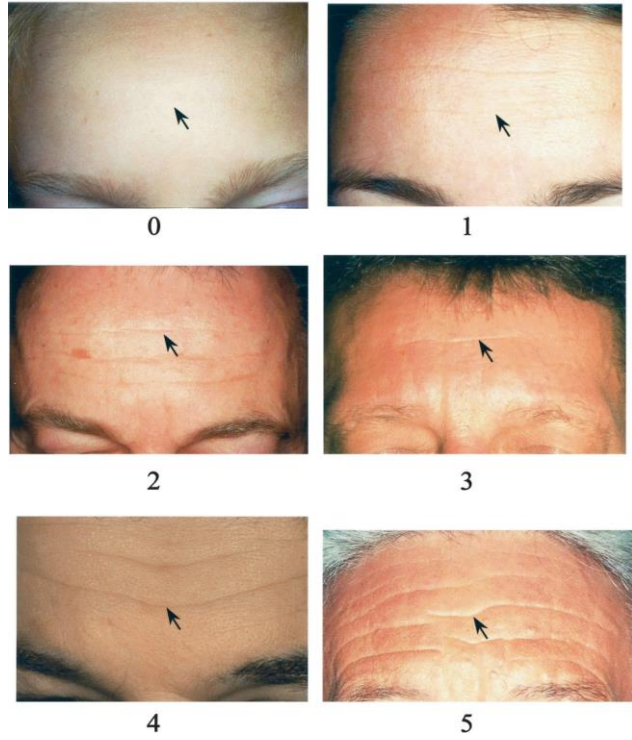
Retira a maquiagem antes de dormir?() sim () não

Utiliza algum tipo de creme na face?() sim () não **Qual?:** _____

Realizou algum destes procedimentos?() cirurgia de ritidoplastia e/ou blefaroplastia (12 meses) () *peeling* químico ou físico ablativo (12 meses) () uso de toxina botulínica (6 meses) () preenchimentos com implantes de colágeno (6 meses) () não

ANEXO III - Classificação de *Wrinkle Assessment Scale* – WAS

Horizontal Forehead Lines

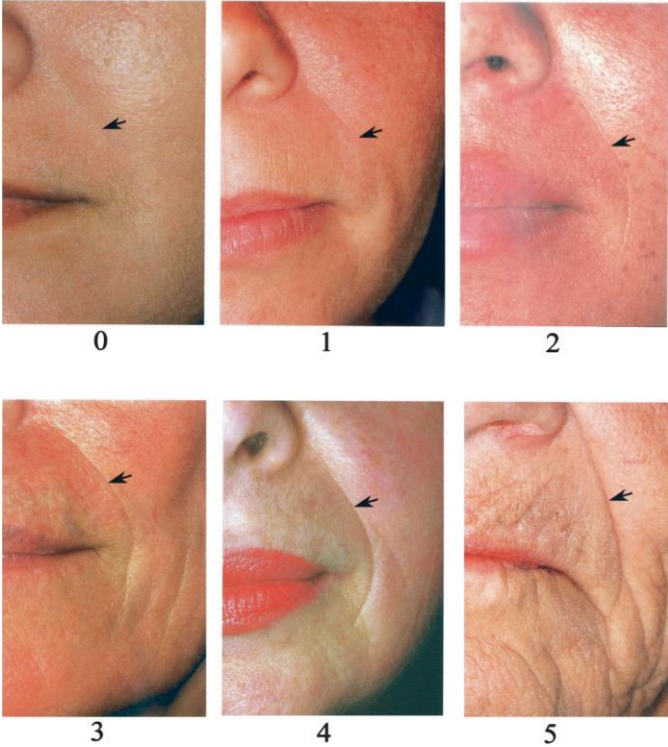


Periorbital Lines

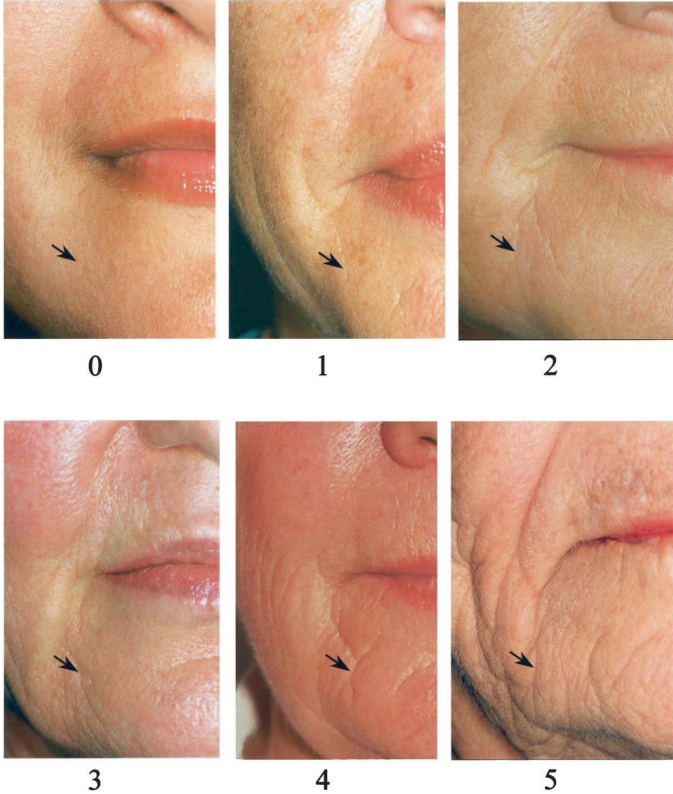


FIG. 5. *Wrinkle Assessment Scale* of periorbital lines.

Nasolabial Folds



Marionette Lines



ANEXO IV

Escala de Melhora Estética Global (GAIS)

(*Global Aesthetic Improvement Scale*) Adaptado de Narins et al., 2003; Fabbrocini et al., 2009.

Escore	Classificação	Descrição
3	Muito melhor	Resultado cosmético ótimo para a implantação neste paciente.
2	Bem melhor	Melhora acentuada na aparência desde a condição inicial, mas não totalmente ótima para este paciente.
1	Melhor	Melhora óbvia na aparência desde a condição inicial.
0	Sem alteração	Aparência essencialmente igual à condição inicial.
-1	Pior	Aparência pior do que a condição inicial.
-2	Bem pior	Piora acentuada na aparência desde a condição inicial.
-3	Muito pior	Piora óbvia na aparência desde a condição inicial.

ANEXO V - Mensuração da autoestima Versão Brasileira da Escala de Autoestima de Rosenberg

Adaptação da Versão da escala de autoestima de Rosenberg após finalizado o processo de tradução e adaptação cultural (versão EPM/Rosenberg) (Dini et al., 2004).

1. De uma forma geral (apesar de tudo), estou satisfeito(a) comigo mesmo(a).

Concordo plenamente	Concordo	Discordo	Discordo plenamente
---------------------	----------	----------	---------------------

2. Às vezes, eu acho que não sirvo para nada (desqualificado(a) ou inferior em relação aos outros).

Concordo plenamente	Concordo	Discordo	Discordo plenamente
---------------------	----------	----------	---------------------

3. Eu sinto que eu tenho um tanto (um número) de boas qualidades.

Concordo plenamente	Concordo	Discordo	Discordo plenamente
---------------------	----------	----------	---------------------

4. Eu sou capaz de fazer as coisas tão bem quanto a maioria das outras pessoas (desde que me ensinadas).

Concordo plenamente	Concordo	Discordo	Discordo plenamente
---------------------	----------	----------	---------------------

5. Não sinto satisfação nas coisas que realizei. Eu sinto que não tenho muito do que me orgulhar.

Concordo plenamente	Concordo	Discordo	Discordo plenamente
---------------------	----------	----------	---------------------

6. Às vezes, eu realmente me sinto inútil (incapaz de fazer as coisas).

Concordo plenamente	Concordo	Discordo	Discordo plenamente
---------------------	----------	----------	---------------------

7. Eu sinto que sou uma pessoa de valor, pelo menos num plano igual (num mesmo nível) às outras pessoas.

Concordo plenamente	Concordo	Discordo	Discordo plenamente
---------------------	----------	----------	---------------------

8. Não me dou o devido valor. Gostaria de ter mais respeito a mim mesmo(a).

Concordo plenamente	Concordo	Discordo	Discordo plenamente
---------------------	----------	----------	---------------------

9. Quase sempre eu estou inclinado(a) a achar que sou um fracassado(a).

Concordo plenamente	Concordo	Discordo	Discordo plenamente
---------------------	----------	----------	---------------------

10. Eu tenho uma atitude positiva (pensamentos, atos e sentimentos positivos) em relação a mim mesmo(a).

Concordo plenamente	Concordo	Discordo	Discordo plenamente
---------------------	----------	----------	---------------------

Afirmativas: 1, 3, 4, 7, 10	
0	Concordo plenamente
1	Concordo
2	Discordo
3	Discordo plenamente
Afirmativas: 2, 5, 6, 8, 9	
3	Concordo plenamente
2	Concordo
1	Discordo
0	Discordo plenamente

ANEXO VI - Escala para Avaliação de Satisfação com o Tratamento – FACE Q

ITENS	MUITO INSATISFEITA	POUCO INSATISFEITA	SATISFEITA	MUITO SATISFEITA
a) Com a simetria do seu rosto (quanto ele se parece igual nos dois lados)?	1	2	3	4
b) Com a harmonia do seu rosto?	1	2	3	4
c) Com relação a proporção do seu rosto?	1	2	3	4
d) Com a aparência do seu rosto no final do dia?	1	2	3	4
e) Com o quanto seu rosto parece fresco?	1	2	3	4
f) Com a aparência descansada do seu rosto?	1	2	3	4
g) Com a aparência do seu perfil (vista lateral)?	1	2	3	4
h) Com a aparência do seu rosto em fotos?	1	2	3	4
i) Com a aparência do seu rosto ao acordar?	1	2	3	4
j) Com a aparência do seu rosto sob luz intensa (ou forte)?	1	2	3	4