

Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila” București
Facultatea de medicină generală

Rezumat al tezei de doctorat

Evaluarea serologică a stresului oxidativ
în etiopatogenia rozaceei

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC:
PROF. UNIV. DR CĂLIN GIURCĂNEANU

DOCTORAND:
DR. ANDREEA MERTICARIU

BUCUREȘTI

2017

Introducere

Rozaceea este la momentul actual una dintre cele mai frecvent întâlnite patologii cutanate în practica dermatologică.

Ultimii ani au fost marcați de creșterea incidenței și prevalenței afecțiunii, în primul rând printr-o mai bună diseminare a informației medicale în rândul populației, despre rozacee și arsenalul său terapeutic. În aceste condiții, s-a înregistrat o mai bună recunoaștere a bolii și în consecință a crescut numărul solicitărilor de tratament încă din fazele inițiale de boală, dar și a gradului de conștientizare în lumea medicală, a impactului semnificativ al rozaceei asupra calității vieții celor afectați, în special a vieții sociale. Prin urmare, mediul științific a alocat mai multe resurse studiului rozaceei și elucidării misterelor sale.

În acest moment, cele mai mari semne de întrebare le ridică etiopatogenia rozaceei.

Deși pași importanți s-au realizat în această direcție, încă nu sunt cunoscute mecanismele exacte responsabile pentru declanșarea bolii.

Factori de mediu, factori genetici, anomalii vasculare, anomalii ale matricei extracelulare sau ale sistemului imunitar înnașcut, diverse infecții cutanate sau ale sistemului gastrointestinal și nu în ultimul rând tulburări ce țin de microbiom, au fost pe larg studiate ca parte a etiologiei rozaceei. Recent au fost înaintate ipoteze ale implicării stresului oxidativ sau unor posibile perturbări ale izoenzimei intestinale a fosfatazei alcaline.

Intervenția stresului oxidativ, secundar excesului radicalilor liberi sau a deficienței mecanismelor antioxidante în patologia cutanată a fost demonstrată, pe lângă o serie de afecțiuni cu răsnet sistemic (diabetul zaharat (1), ateroscleroza și alte tulburări cardiovasculare (2), insuficiențele de organ(3) etc.), în diverse boli dermatologice cum ar fi: psoriazis (4), dermatita atopică(5) sau dermatita seboreică (6), alopecii (7), acnee (8)etc.

Această lucrare concretizează preocuparea noastră specială pentru domeniul etiopatogeniei rozaceei. La baza cercetărilor efectuate au stat primele studii care demonstau prezența stresului oxidativ la nivel cutanat în rozacee, prin identificarea unui deficit al apărării antioxidante, alături de o creștere a concentrației moleculelor marker pentru stres oxidativ, dar și corelația inflamație/ stres oxidativ, rozaceea fiind definită drept o afecțiune cutanată inflamatorie cronică.

Stresul oxidativ ar putea astfel oferi o explicație a asocierii rozaceei cu o multitudine de afecțiuni, multe dintre acestea fiind cronice și de natură inflamatorie.

În acest sens, scopul lucrării de față este evaluarea noțiunilor terotice existente la momentul actual cu privire la rozacee, în general și etiopatogenia bolii, în particular. Totodată este analizată existența stresului oxidativ la nivel sistemic la pacienții diagnosticați cu rozacee.

Această cercetare sugerează că, identificarea stresului oxidativ la nivel serologic în rozacee impune o evaluare extinsă, ținând cont de factorii de risc asociați, a pacienților pentru prevenția altor afecțiuni sistemice ce apar pe fond de stres oxidativ și poate avea ca efect, apariția unor noi metode terapeutice.

PARTEA GENERALĂ

Capitolul 1. Scurt istoric

Rozacea a fost pentru prima dată menționată și descrisă ca afecțiune medicală de către medicul francez Guy de Chauliac (1300, Chauliac, Auvergne, Franța- 25 iulie 1368, Avignon), unul dintre cei mai mari chirurghi ai Evului Mediu în lucrarea sa “Chirurgia magna“ apărută în anul 1363 și considerată de mulți specialiști în domeniu, o lucrare de referință pentru acea perioadă.

Rozaceea este descrisă încă din antichitate, moment în care apar primele referiri la conexiunea rozacee – alcoolism. Referiri la rozacee se regăsesc în epoca medievală atât în marile opere literare, cât și în artă.

Începând din secolul al 19-lea, medicii suspectează legături etiologice între acnee și rozacee, rozaceea fiind descrisă ca o formă clinică de acnee și fiind denumită „acnee-rozacee”, termen care apare pentru prima dată tipărit în “Sinopsisul practic al bolilor cutanate” (1818) al lui Thomas Bateman (1778 – 1821) ⁽⁹⁾.

Un pas înainte în studiul rozaceei, îl reprezintă includerea în lucrări medicale a unor planșe colorate ce prezintă principalele caracteristici clinice ale rozaceei: telangiectazii, papule și pustule. Lui Thomas Bateman (1778–1821) i se datorează ilustrata care va marca pentru o perioadă lungă de timp reprezentările rozaceei în lucrările medicale ale vremii ⁽¹⁰⁾. De la începutul secolului al 19-lea încep să fie create mulaje de ceară pictate, peste 20 de mulaje aparținând Muzeului de mulaje al spitalului de dermatologie Saint Louis din Paris, iar în ultima parte a secolului al 19-lea se consemnează utilizarea litografiilor cu poze ale unor mulaje de ceară după pacienții cu rozacee și a fotografiilor alb-negru după 1900 ⁽¹¹⁾.

Din secolul al 18-lea, apar date despre epidemiologia rozaceei, se fac asocieri între bolile inflamatorii ale tubului gastrointestinal, boli hepatice sau tulburări menstruale și debutul rozaceei și nu în cele din urmă este suspectată predispoziția genetică a rozaceei ⁽⁹⁾. Spre finalul secolului al 19-lea se face distincție între acnee și rozacee, aceasta din urmă fiind percepută drept boală de sine stătătoare, fapt la care au contribuit descrierile lui von Hebra în Austria (de altfel primul medic care face diagnosticul diferențiar dintre acnee și rozacee pe baza absenței comedoanelor din tabloul clinic al acesteia din urmă) și ale lui Ferdinand-Jean Darier (1856 – 1938) în Franța ⁽¹¹⁾.

Aspecte importante privind etiologia și posibilitățile de tratament ale rozaceei sunt identificate după anii 2000. Tot din această perioadă începe să fie recunoscut impactul rozaceei asupra populației, medicii semnaland afectarea calității vieții pacienților din cauza leziunilor faciale, dar și impactul economic al afecțiunii.

În 2002 în Statele Unite ale Americii, Comitetul de experți al Societății Naționale pentru Rozacee a publicat sistemul de clasificare a rozaceei și la 2 ani distanță, sistemul de stadializare a afecțiunii. În secolul al 20-lea apar o multitudine de ipoteze etiopatogenetice, dintre care cea care a generat cele mai multe lucrări științifice a fost ipoteza infecțioasă conform căreia rozaceea

este consecință a infecției gastrice cu bacteria *Helicobacter pylori* sau a infecției cutanate cu parazitul *Demodex folliculorum*, purtător sau nu, al *Bacillus oleronius*, parazit al speciei *demodex*.

Numeroase opțiuni de tratament local sau sistemic se adaugă arsenalului terapeutic, ultima aprobată fiind brimonidina, un beta blocant topic având drept indicație eritemul facial persistent. Cel mai recent pas în studiul rozaceei, este făcut la finalul anului 2015: este confirmată predispoziția genetică a pacienților prin identificarea polimorfismului uninucleotid rs 763035 de pe cromozomul 6, ceea ce marchează deschiderea de noi căi în căutarea unor opțiuni definitive de tratament (12).

Capitolul 2. Noțiuni teoretice despre rozacee

2.1 Epidemiologia rozaceei

Rozaceea este în general o boală a adulților tineri, cu fototip I sau II, a căror vârstă la debut este de 30-35 de ani. Deși pacienții pot avea orice origine etnică, cei mai mulți au descendență europeană, nordică sau estică. În literatură se menționează, inclusiv, cazuri de dermatoze faciale cu manifestări de tip rozacee, cu debut în copilărie (13).

Totuși, incidența și prevalența bolii nu sunt cunoscute cu exactitate: în literatura de specialitate americană se preconizează că peste 16 milioane dintre americani au rozacee, dar dintre aceștia doar aproximativ 10% au o formă suficient de deranjantă pentru a se prezenta într-un cabinet medical. Prevalența estimată a rozaceei, în studii efectuate în diverse centre universitare din lume variază pe o scală largă, între 0,09-22 % (14). Prevalența afecțiunii crește o dată cu vârsta și în general, femeile sunt mai frecvent afectate decât bărbații, cu un raport - pacienți de sex feminin/pacienți de sex masculin de 2-3:1. Cu toate acestea, există studii care indică faptul că ambele sexe sunt afectate, în mod egal (15) (16).

În funcție de forma de rozacee, s-a observat că indiferent de sex, de vârstă sau de perioada de timp de la debut, forma de rozacee eritematotelangiectazică predomină față de rozaceea papulopustuloasă. De asemenea, s-a constatat că rozaceea fimatoasă este apanajul sexului masculin (15).

Rozaceea afectează, de cele mai multe ori, calitatea vieții pacienților, putând predispuce la stres psihic prin tulburările estetice pe care le presupune, uneori acestea mergând până la boală severă desfigurantă. Deși impactul asupra psihicului diferă în funcție de personalitatea celui afectat, morbiditatea determinată de rozacee este dependentă de severitatea bolii și devine importantă în decadele 4-5 de viață (17).

Bazele genetice ale rozaceei au fost confirmate relativ recent prin identificarea unui defect genetic-polimorfismul mononucleotid rs763035, localizat pe un braț al cromozomului 6, în vecinătatea genelor care codifică HLA-DRA, respectiv BTNL2 și care apare cu o frecvență crescută la bolnavii respectivi, precum și a trei alele HLA care s-au asociat semnificativ statistic cu rozaceea: HLA-DRB1*03:01, HLA-DQB1*02:01 și HLA-DQA1*05:01 (18).

De asemenea a fost demonstrată frecvență crescută de apariție a polimorfismului genei GST, la indivizii afectați de rozacee. Astfel, genotipurile nule GSTM1 și GSTT1, care sunt cauză cunoscută de activitate oxidativă amplificată, se asociază cu un risc crescut al purtătorilor de a dezvolta, pe parcursul vieții, una dintre formele clinice ale rozaceei (19).

Rozaceea se asociază cu o serie de boli, în general de natură inflamatorie sau imună, spre exemplu cu diabet zaharat de tip I, retinopatii diabetice, boală celiacă, rinosinuzită cronică, distonii faciale tip blefarospasm esențial sau spasm hemifacial, favorizarea hemifetei cu pareză de nerv facial, crize migrenoase etc (20). Cu cât forma clinică de rozacee este mai severă, cu atât crește riscul pacientului de a prezenta multiple comorbidități.

Riscul cardiovascular a fost evaluat în studii multiple: bolnavii cu rozacee au incidență crescută a hipertensiunii arteriale, dislipidemie, tulburărilor coronariene, bolilor metabolice (31).

Factorii posibil declanșatori ai unui episod de flushing sau ai unei acutizări a rozaceei pot fi împărțiți, didactic, în factori vasculari, chimici, climatici. Fiecare pacient este un individ unic, astfel încât, factorii trigger variază de la persoană la persoană. Cei mai frecvenți factori declanșatori sunt: expunere la raze ultraviolete, stresul, căldura, frigul, vântul, exercițiul fizic intens, consum de băuturi alcoolice, medicamente, alimente picante, unele produse de îngrijire a pielii etc. Unii dintre factorii declanșatori ai rozaceei induc simptomele și leziunile caracteristice afecțiunii prin activarea receptorilor de tip vaniloid ai potențialului receptor tranzitiv (TRPV1) (21) implicat în procese de reglare a calibrului vascular.

2.2 Histopatologie

Diagnosticul în rozacee se stabilește pe criterii clinice, biopsia fiind efectuată în situații particulare ce impun excluderea lupusului eritematos, sarcoidozei sau lupusului miliar, ultimele două fiind afecțiuni greu de diferențiat de rozaceea granulomatoasă în lipsa buletinului histopatologic (22).

Din punct de vedere histopatologic, rozaceea are patru mari caracteristici: telangiectazii, infiltrat inflamator, edem în dermul superficial și prezența mastocitelor în număr crescut în derm, indiferent de forma clinică de rozacee. Modificările histopatologice nu sunt limitate doar la leziuni, ci pot să apară și perilezional (23).

Telangiectaziile ocupă două treimi superioare ale dermului și au formă atipică: pot avea dilatații tortuoase sau traiect geometric, dimensiuni neobișnuite, proiecții intraluminale și număr redus de celule endoteliale. În dermul superior se remarcă dezintegrarea matricei dermice, edemul secundar, fragmentarea fibrelor, neoangiogenează și variate grade de elastoză solară. Pot să apară parakeratoză și spongioză focale. Dopuri foliculare blochează regiunea infundibulară dilatată a foliculilor pilosebacei (22)(23).

În rozacee apare un infiltrat inflamator format, în general, din limfocite Th1 sau Th17, macrofage, histiocite și mastocite, cu localizare variată, perifolicular, interstițial sau perivascular, în funcție de forma de rozacee. Ocazional, se întâlnesc, în special în rozaceea papulopustuloasă neutrofile și în rozaceea fimatoasă, limfocite B (24).

În funcție de tipul clinic de rozacee există particularități ale examenului anatomopatologic.

2.3 Imunohistochimie

Vasele din leziunile de rozacee pot exprima markerii vasculari CD 31 sau D2-40.

În toate formele de rozacee se întâlnește infiltratul inflamator dermic format preponderent din limfocite Th1\Th17 (25).

Sunt crescute expresiile catelicidinei și a peptidului LL37, a VEGF și a receptorilor pentru VEGF, indiferent de forma clinică a bolii. Apare expresie amplificată a receptorilor toll-like TLRs de pe suprafața keratinocitelor, dar și a altor tipuri de receptori: receptorii pentru amine vasoactive – receptorul HTR3A pentru serotonină, receptorii H2R și H3R ai histaminei sau receptorul pentru adrenomedulină. De asemenea, TRPV1 este supraexprimat și are activitate crescută. Secundar activării TRPV1 în piele, are loc eliberarea de neuropeptide la nivel cutanat, ducând la declanșarea inflamației neurogene.

Kalicreina 5 este exprimată în toate straturile epidermului, iar numărul celulelor feritin pozitive este de asemenea crescut (26) (27) (28).

Celulele endoteliale activate și mastocitele de infiltrație eliberează cantități crescute de polipeptidul activator al adenilat ciclazei pituitare PACAP, substanță cu important efect vasodilatator (29).

În cazul rozaceei granulomatoase s-a evidențiat o expresie crescută în derm, a metaloproteinazelor matriciale MMP2 (gelatinaza A) și MMP9 (gelatinaza B), comparativ cu rozaceea non-granulomatoasă. În plus, expresia MMP9 este crescută în fibroblastele pacienților cu rozacee care prezintă, concomitent, infecție cu *Demodex folliculorum* (30).

Modificări ale expresiei metaloproteinazelor se întâlnesc și în rozaceea oculară. În umorul apos ocular, atât MMP8 (colagenaza 2), cât și MMP9 au expresie amplificată, în timp ce în lacrimi s-a evidențiat activitate crescută a MMP8 (31) și un nivel scăzut al fosfolipazei A2, grup IIA (27). Tot la pacienții cu afectare oculară, pe suprafața celulelor conjunctivale epiteliale, markerii HLA-DR și moleculele de adeziune ICAM-1 sunt supraexprimate, reflectând inflamația caracteristică rozaceei (27).

În forma de fimă a rozaceei este crescută expresia izoformelor TGF β ₁ și TGF β ₂, precum și a receptorului acestora (27).

2.4 Tabloul clinic al rozaceei

Rozaceea este o dermatoză facială cu evoluție cronică, marcată de perioade alternative de remisie și acutizare, ce afectează, în special, obrazii, nasul, fruntea și mentonul. Uneori boala se extinde, cuprinzând în afara regiunilor convexe ale feței, pavilionul urechilor, scalpul, zona decolteului sau a umerilor.

Conform clasificării Comitetului de Experti ai National Rosacea Society din America din 2002, rozaceea are patru mari forme clinice: eritematotelangiectazică, papulopustuloasă,

fimatoasă și oculară (32). Încadrarea într-o anumită formă, se realizează pe baza semnelor clinice primare sau secundare. Semnele clinice primare sunt: eritemul tranzitor sau flushingul, eritemul persistent, papulele, pustulele, telangiectaziile. Semnele clinice secundare ce însoțesc semnele primare sunt: senzație de arsură sau înțepătură, plăci, edem, xeroză facială, simptomatologia oculară, modificările de tip fimă și localizările faciale periferice.

Eritemul tranzitor al zonelor convexe faciale este prima manifestare care marchează debutul rozaceei. În fazele incipiente acesta are o durată scurtă de timp, ce depinde de tipul și de durata de acțiune a stimulului ce l-a declanșat. Pacientul poate acuza senzație locală de arsură sau înțepătură, ce se remite o dată cu episodul de eritem.

În RET sau cuperoză, eritemul devine persistent și afectează difuz fața, dar cu respectarea regiunii perioculare. Are culoare roșu aprins - violaceu mediofacial, cu nuanțe mai deschise de roșu-roz, către margini. Pe fondul difuz al eritemului se pot observa telangiectazii, dilatații permanente ale vaselor superficiale cutanate, dispuse pe obraji, frunte, nazolabial și pe piramida nazală. Tegumentul este neted, fără dilatații foliculare. În condiții de expunere la factorii declanșatori poate să apară aspectul de dermatită ușoară, eritemul fiind acompaniat de scuame fine și de textură cutanată aspră.

În RPP, pe fondul eritemului, se dezvoltă pe pomeți, menton, nas și în zona centrală a frunții elementele inflamatorii: papule și papulopustule. Pe ariile de inflamație intensă, din cauza edemului important, leziunile pot căpăta aspect de placă sau noduli. Flushingul episodic este mai rar, cum de altfel sunt și acuzele de arsură sau înțepătură. Asemănător RET, în RPP eritemul facial respectă zona periorbitală. În cazuri severe pustulele caracteristice se identifică inclusiv pe helixul urechii.

În rozaceea fimatoasă, plăci și noduli deformează regiunile anatomice faciale bogate în glande sebacee, cu apariția rinofimei, gnatofimei, otofimei, metofimei sau a blefarofimei. Tegumentul este îngroșat, cu aspect de coajă de portocală în ariile afectate și cu dilatații foliculare marcate.

Rozaceea oculară este diagnosticată pe baza simptomatologiei. Comitetul de experți ai National Rosacea Society au stabilit diagnosticarea rozaceei oculare la apariția a cel puțin unul dintre următoarele criterii, neexistând un test paraclinic de stabilire a diagnosticului: conjunctivită sau lăcrimare, senzații de corp străin, arsură sau înțepătură, prurit, fotofobie, xeroză, imagine neclară, telangiectazii ale conjunctivei, marginilor pleoapelor sau pleoapelor și eritem periocular (32)(33). Se mai pot observa blefarită, irită, keratită, deformări ale marginilor pleoapei, chalazion, inflamații ale glandelor meibomius. După unii autori blefarita este cea mai caracteristică prezentare a rozaceei oculare, cu eritem și scuame ale pleoapelor (34).

În afara celor patru forme majore de rozacee, clasificările clinice includ și variante mai rare. Astfel, rozaceea granulomatoasă are un tablou clinic marcat de granuloame mici, cu aspect gălbui-portocaliu de jeleu de măr, lupoid la vitropresiune, localizate în regiunile faciale superioare, periocular și perinazal (34). Alte semne de rozacee sunt absente sau discrete. Adesea pacienții nu prezintă istoric de flushing și pot avea rezistență la formele obișnuite de tratament. Remisia granuloamelor se poate face cu cicatrice.

O altă variantă, particulară prin severitatea sa este rozaceea fulminans, cunoscută și drept pioderma facială. Brusc, se dezvoltă leziunile cutanate de tip abces sau chist, ce în evoluție devin confluențe și fuzionează cu formarea de traiecte sinusale. Apariția tabloului clinic caracteristic se asociază cu simptome constituționale: febră, mialgii, leucocitoză și pozitivarea reactanților de fază inflamatorie acută. Un posibil factor declanșator al rozaceei fulminans este sarcina sugerând potențialul rol al modificărilor hormonale în etiopatogenia acestei variante de boală (35), dar în literatura de specialitate sunt menționate cazuri de rozacee fulminans asociate cu boală intestinală inflamatorie (36) sau cu administrarea de interferon α -2B sau ribavirin la bolnavii infectați cu virusul hepatitei C (37).

Alte variante de rozacee includ: rozaceea postcortizonică, rozaceea neurogenă sau rozaceea conglobata. Pentru o lungă perioadă de timp dermatita periorală a fost privită drept tot o variantă de rozacee, dar la momentul actual este considerată entitate de sine stătătoare.

Rozaceea neurogenă se remarcă prin simptomatologia disproporționată față de manifestările clinice: crize de flushing cu senzații de tip arsură, înțepătură de intensitate crescută și care se asociază cu tulburări neuropsihiatrice tip depresie, tulburări obsesiv-compulsive, tremur esențial și durere intensă, cu localizare variată sau tulburări neurovasculare gen migrenă sau sindrom Raynaud (38).

Rozaceea conglobata este o variantă de rozacee caracterizată de leziuni faciale sub formă de abcese, noduli hemoragici și plăci indurate cu evoluție cronic progresivă.

Rozaceea postcortizonică se caracterizează prin apariția unor semne și simptome asemănătoare rozaceei, după câteva săptămâni de folosire a unor dermatocorticoizi potenți pe față sau în urma opririi aplicării corticoterapiei topice pe tegumentul facial după o utilizare de lungă durată (mai mult de opt săptămâni).

În evoluția afecțiunii, forma de boală se menține sau se poate agrava de la RET la RPP sau rinofimă, dar acest fapt nu este obligatoriu, eritemul putând persista indefinit, fără apariția componentei inflamatorii.

2.5 Etiopatogenia

Etiopatogeneza rozaceei nu este complet elucidată, deși conform ultimelor studii în domeniu, se poate discuta despre o îmbinare a factorilor de natură infecțioasă, a tulburărilor de imunitate locală și de reglare neurovasculară, precum și a unui mediu proinflamator, favorizant apariției și întreținerii inflamației ce stă la baza debutului leziunilor specifice.

2.5.1 Predispoziție genetică

În ultimii ani, studii genetice au confirmat existența unor defecte genice în declanșarea rozaceei, însă fără a-și propune identificarea acestora. Anterior acestui moment, ipoteza componentei genetice era susținută prin incidența crescută a rozaceei în rândul populației cu descendență celtică, cu fototip III dar și a aglomerării de cazuri în cadrul acelorași familii, sau la perechile de gemeni univitelini (39).

Autorii unui studiu în care au fost incluse 275 de perechi de gemeni au ajuns la concluzia că factorii genetici contribuie în proporție de 46% la declanșarea bolii (39).

Recent, un studiu a identificat pe un lot de persoane cu descendență europeană, ce respecta caracteristicile epidemiologice ale rozaceei, existența la cei bolnavi a unui polimorfism mononucleotid rs763035 localizat între genele ce codifică HLA-DRA și BTNL2 de pe cromozomul 6(12). Același studiu a identificat în plus trei alele HLA care se asociază semnificativ statistic cu rozaceea: HLA-DRB1*03:01, HLA-DQB1*02:01 și HLA-DQA1*05:01, de asemenea localizate pe cromozomul 6(12).

Altă lucrare științifică arătat apariția mai frecventă a unui polimorfism a genei GST la cei bolnavi. Prezența genotipurilor nule GSTM1 și GSTT1, ar putea indica risc de dezvoltare al rozaceei și totodată este o cauză de activitate oxidativă crescută, fapt implicat după ultimele teorii în etiopatogeneza afecțiunii (40).

Descoperirea acestor baze genetice ale rozaceei marchează o nouă etapă în abordarea terapeutică a bolii, cu apariția a noi posibile ținte pentru tratament.

2.5.2. Ipoteza factorului infecțios

A. Helicobacter pylori

Cele mai multe studii, pe tema posibilului rol al unora agenți infecțioși în etiopatogenia rozaceei, au fost dedicate microorganismului *Helicobacter Pylori* (*H pylori*). Unul dintre mecanismele propuse este cel al inflamației declanșată de infecție și care stă la baza inițierii lanțului de evenimente ce duce în cele din urmă la modificările locale vasculare și inflamatorii cutanate premergătoare instalării rozaceei. Infecția *H pylori* induce în celulele gastrice sinteză și eliberare de mediatori ai inflamației: TNF α și interleukinele IL6, IL10, IL8 (41)(42). Alte mecanisme sunt cel al amplificării secreției gastrice de gastrină secundar infecției *H pylori*, ceea ce ar duce la nivelul pielii la creșterea reactivității vasculare și astfel, la un episod de flushing (43), respectiv mecanismul deficitului aldehid dehidrogenazei cu deficit al metabolizării acetaldehidei rezultate din cauza colonizării cu *H pylori*, cu acumularea sangvină a unor cantități mari de acetaldehidă, substanță cu efecte vasodilatatoare, inductoare de crize de eritem tranzitor(44).

Cei care susțin legătura dintre rozacee și infecția tubului digestiv cu *H pylori* aduc argumente ce țin de tabloul clinic: ameliorarea simptomatologiei în momentul eradicării infecției prin administrare sistemică de antibiotic, dar și de paraclinic, prin demonstrarea unei prevalențe crescute a infecției la pacienții cu rozacee, în special la cei cu forma clinică RPP (45) (46)(47).

În plus, pe un lot de pacienți s-a evidențiat o prevalență de 67% a anticorpilor anti CagA, antigen al tulpinilor *H pylori* CagA + , la bolnavii de rozacee ce prezentau și simptome dispeptice, față de 32% la indivizi cu dispepsie, dar fără semne de rozacee. În același lot anticorpii IgG și IgA anti *H pylori* au fost identificați la 81% dintre pacienții cu rozacee și simptomatologie gastrică (48). Predominanța anticorpilor anti CagA, în rozacee a fost susținută prindiferite studii, care au demonstrat prevalența mai mare a tulpinilor CagA pozitive la formele papulopustuloase, fapt explicat prin răspunsul imun și inflamator amplu indus de proteina CagA (49)(50).

În concluzie, nu există la momentul actual dovezi concludente pro sau împotriva relației de cauzalitate dintre cele două afecțiuni.

B. Bacterii intestinale și fosfataza alcalină izoenzima intestinală

A fost investigată de asemenea implicarea altor microorganisme rezidente în lumenul tubului digestiv în etiopatogenia rozaceei. Studii au arătat că o creștere exagerată a populației bacteriene din intestinul subțire în dismicrobisme de diverse cauze, este prezentă la pacienți cu rozacee spre deosebire de indivizi sănătoși (51).

Au fost propuse în diverse studii, mecanisme diferite pentru a explica legăturile dintre bacteriile intestinale și declanșarea rozaceei, cum ar fi activarea sistemului kinin-kalikreină comună ambelor afecțiuni (52), respectiv deficitul activității fosfatazei alcaline intestinale(53).

Fosfataza alcalină intestinală (FAI) este o izoenzimă specific tisulară din grupul familiei fosfatazei alcaline și este sintetizată în enterocit. Activitatea acestei enzime este esențială în menținerea homeostaziei intestinale prin menținerea echilibrului dintre populația bacteriană intestinală, alimentație și enterocit și prin blocarea amplificării exagerate a răspunsului inflamator declanșat de bacteriile patogene intestinale.

Enzima are funcție de hidrolază la un pH de 9-10 (pH optim 9,7). Activitatea sa scade la pH acid. Intraluminal, FAI mediază desfosforilarea polizaharidelor bacteriilor intestinale gram negative precum și a altor molecule care au efecte proinflamatorii prin activarea receptorilor TLR (cum sunt de exemplu: adenzin trifosfat, uridin difosfat etc). FAI intervine și în controlul pasajului din intestin către domeniul intracelular a unor puternice substanțe vasoactive ce au fost eliberate intraluminal: gastină, secretină și VIP sau alte peptide imunogene obținute din prelucrarea bolusului alimentar. Toate acestea sunt capabile să declanșeze episoade tranzitorii de flushing în rozacee, în special, în deficitul de FAI în care pasajul acestor hormoni nu mai este eficient controlat.

În sprijinul ipotezei deficitului FAI ca și factor favorizant al debutului rozaceei vine ameliorarea simptomelor și inflamației rozaceei în urma administrării de metronidazol, despre care se știe că favorizează activitatea FAI și că scade nivelul TNF α sau a administrării de antibiotice sistemice, care au sau nu absorbție intestinală și care reduc/elimină bacteriile purtătoare de lipopolizaharidele imunogene intestinale ce sunt sursă de răspuns inflamator local și/sau sistemic (53). Zincul crește la rândul său activitatea FAI și există studii care susțin rolul său benefic în tratamentul rozaceei. Activitatea FAI este modulată de hormonii sexuali feminini, estrogenul fiind factor de stimulare, iar progesteronul factor inhibitor(54). Unii cercetători au observat un comportament asemănător al rozaceei, cu acutizare sau debut în timpul sarcinii sau a fazei progesteronice a ciclului menstrual (55).

Alimentația poate modula activitatea FAI, observându-se că factorii dietetici care declanșează acutizări ale rozaceei sunt totodată factori de inhibare a FAI. În acest moment se află în desfășurare mai multe studii despre rolul benefic al administrării FAI pe cale intravenoasă la pacienți cu afecțiuni inflamatorii severe. Până la momentul actual, nu sunt cunoscute publicări ale evaluării nivelului FAI la pacienții cu rozacee (53).

C. Demodex folliculorum

Demodex este un ectoparazit, un acarian ce trăiește în zonele bogate în glande de sebum ale feței (frunte, pomeți, nas, marginea pleoapelor). Infestarea este definită drept descoperirea a cel puțin cinci paraziți pe cm² sau existența a cinci indivizi per folicul sau localizarea intradermică.

Numeroasele studii dedicate D. folliculorum la pacienții cu rozacee au arătat o infestare mai mare a pielii bolnavilor cu acest parazit, față de martori, sugerând ca există o relație de cauzalitate între cele două entități^{(56),(57)}. Alți autori au ajuns la concluzia că D. folliculorum este un factor non-necesar și non-suficient pentru declanșarea rozaceei⁽⁵⁸⁾.

Mecanismele propuse în declanșarea rozaceei sunt reacție de hipersensibilitate de tip întârziat la antigenele parazitului⁽⁵⁹⁾, în dermul adiacent foliculului infectat, fiind evidențiat infiltrat inflamator mononuclear perifolicular format din limfocite Th CD4 pozitive, respectiv amplificarea nivelului peptidului proinflamator LL37 secundar stimulării activității proteazelor KLK5 prin activarea receptorilor TLR 2⁽⁶⁰⁾.

D. Bacillus oleronius

B. oleronius este o bacterie gram negativ. B. oleronius stimulează sinteză de MMP 9, TNF și IL8 din neutrofile, fiind mai sensibile neutrofilele pacienților cu rozacee față de cele ale unor martori sănătoși⁽⁶⁰⁾. Neutrofilele ce vin în contact cu antigenele de B. oleronius în culturi celulare sunt activate pe calea IP3 (inositol trifosfat)⁽⁶¹⁾. În studiul lui O'Reilly N și al colegilor, 80% dintre pacienții cu RET prezintă reactivitate serică la două dintre proteinele bacteriei, una de 62 de kDa, asemănătoare unei proteine a șocului termic și respectiv, una de 83 de kDa, similară unei enzime bacteriene cu sinteză crescută în condiții de stres oxidativ⁽⁶²⁾. Aceste proteine antigenice pot declanșa răspuns inflamator amplu la cei infectați cu D. folliculorum purtător de B. oleronius.

Unele studii au demonstrat efectul negativ in vitro al proteinelor B. oleronius asupra culturilor de celule epiteliale corneene⁽⁶³⁾⁽⁶⁴⁾.

2.5.3 Ipoteza tulburărilor sistemului imun înăscut cutanat

Studii histopatologice și imunohistochimice au arătat un nivel crescut al catelicidinei și kalikreinei 5, principala enzimă de clivare a catelicidinei, în tegumentul pacienților cu rozacee.

La pacienții cu rozacee KLK5 a fost identificată în toate straturile epidermului, spre deosebire de indivizi sănătoși la care este exprimată doar în epidermul superior. Sub acțiunea KLK5 se obține peptidul LL37, cu funcții importante în imunitatea înăscută. LL37 din rozacee are dimensiuni mai reduse față de echivalentul său de la persoane sănătoase și este capabil de a induce modificări cutanate similare rozaceei, prin injectarea intracutanată a șoarecilor de laborator, dar în prezența mastocitelor⁽⁶⁵⁾.

Nu se cunosc motivele nivelului crescut al catelicidinei și ale KLK5 la acești pacienți, dar există mai multe ipoteze ce țin de prezența și acțiunea factorilor declanșatori ai rozaceei. S-a presupus că razele ultraviolete, care induc sinteză de vitamină D, ar avea un rol, știindu-se faptul că, această vitamină poate, la rândul său, să stimuleze producția LL37.

Activarea TLR determină creșterea expresiei și deci a activității kalikreinelor care la rândul lor up-regulează TLR. Studii au arătat că prezența aceluiași antigen este responsabilă de

sinteză crescută de MMP9 sau MMP2, aceste metaloproteinaze fiind activatori ai KLK5. Unii autori presupun că mastocitele ce infiltrază tegumentul lezional sunt sursa unor cantități crescute de MMP9 (60).

2.5.4 Ipoteza tulburărilor locale neurovasculare

Biopsii din pielea pacienților cu rozacee arată o strânsă apropiere între vase de sânge, terminații nervoase senzitive cu densitate crescută, mastocite și neutrofile. Expresia receptorilor și moleculelor de comunicare dintre toate aceste celule imune și structuri este crescută, sugerând existența în rozacee a unei interacțiuni neuroimune și neurovasculare(26)(66).

Cercetătorii au arătat că rozaceea poate fi declanșată de activarea sistemului nervos periferic senzitiv cutanat prin intermediul a două clase de receptori localizați pe celulele nervoase aferente: receptorii vaniloizi TRPV și receptorii canal ankirinici TRPA (60) .

Activarea celor două clase de receptori duce la eliberarea de mediatori ai inflamației neurogene și ai durerii, dintre care cea mai importantă este substanța P (SP), alături de peptidul înrudit cu gena calcitoninei. Ambele produc inflamație de tip neurogen și vasodilatație, SP prin activarea receptorului NK1 localizat la suprafața venulei postcapilare (clinic edem), cea de a doua prin acțiune asupra arteriolelor (clinic flushing) (67).

Alți receptori, cu expresie crescută pe fibrele nervoase senzitive, sunt receptorii HTR3A pentru serotonină. Administrarea unui inhibitor de HTR3A în rozacee a dus la ameliorarea simptomatologiei, deschizând calea unor noi abordări terapeutice (68).

Studii recente au evidențiat cantități crescute local și ale altor neuromediatori cu proprietăți vasodilatatoare: PACAP (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptid)și VIP, ambii neuromediatori capabili de degranulare a mastocitelor (69).

2.5.5 Ipoteza implicării speciilor reactive de oxigen

Există studii care au confirmat creșterea speciilor reactive de oxigen (SRO) în țesutul lezional din rozacee față de țesutul indiviziiilor sănătoși. În piele SRO sunt sintetizate din keratinocitele și leucocitele infiltrate activate ca parte a procesului inflamator. SRO amplifică inflamația indusă de catelicidină-KLK5 prin stimularea receptorilor TLR2 și sunt promotor al degradării matricei dermice prin modularea expresiei MMP și a inhibitorilor tisulari ai metaloproteinazelor matriceale, TIMP. Sub acțiunea SRO crește expresia MMP2 și scade expresia TIMP1 în fibroblastele dermice (70).

Degradarea matricei favorizează procesul inflamator prin faptul că permite acumulare de celule infiltrate, edem și mediatori ai inflamației. SRO cresc și expresia unor molecule chemoattractante pentru leucocite, CCL2 și CXCL8.

Un mare inductor de SRO în țesuturi este radiația ultravioletă.

2.5.6 Ipoteza implicării razelor ultraviolete

Razele ultraviolete sunt unul dintre factorii documentați de declanșare a episoadelor de flushing și de agravare a tuturor formelor de rozacee.

Principalul mecanism prin care razele ultraviolete intervin în patogenera rozaceei este de inducere a SRO și astfel de degradare a matricei extracelulare și de favorizare a desfășurării procesului inflamator. Sub acțiunea UVB crește sinteza de VEGF și FGF2 din keratinocite. UVA

crește expresia MMP și stimulează degradarea colagenului dermic (26)(60)(66). De asemenea crește cantitatea de mediatori proinflamatori din piele: IL1 β , IL6, IL10, TNF α , CXCL8. CXCL8 are rol în menținerea recrutării neutrofilelor la locul inflamației.

Rolul razelor ultraviolete în inițierea modificărilor tisulare locale premergătoare rozaceei pare să nu fie de importanța majoră. Deși modificări histopatologice specifice elastozei solare pot fi prezente în toate formele de rozacee, un studiu recent desfășurat pe 100 de indivizi împărțiți pe grupe în funcție de intensitatea evaluată a expunerii la raze ultraviolete, a arătat că acestea nu au efect asupra prevalenței RPP (70).

2.6 Diagnostic diferențiar

De cele mai multe ori diagnosticul rozaceei este un diagnostic clinic, fără a necesita teste paraclinice. Examenul histopatologic este folosit în rarele situații care ridică suspiciuni de afecțiuni ce pot mima diverse forme de rozacee: lupus eritematos, sarcoidoză sau lupus miliar.

Diagnosticul diferențiar al rozaceei depinde de forma clinică (71).

2.7 Tratament

Tratamentul rozaceei are trei componente principale: prevenție, îngrijire specială a tegumentului afectat și tratament local sau sistemic.

În concluzie, ghidurile terapeutice în vigoare ale rozaceei aduc recomandări pentru fiecare formă clinică de rozacee (72). Prima linie terapeutică constă în tratament local, cea de a doua în tratament sistemic. Evaluarea eficienței unui tratament topic se face la 6-8 săptămâni, moment în care se poate decide suplimentarea sau schimbarea terapiei, dacă nu se obțin rezultatele scontate. În cazurile severe tratamentul topic și cel sistemic se asociază de la primul consult.

Pentru RET, prima linie terapeutică constă în tratamentul topic cu agoniști ai receptorilor α -adrenergici, metronidazol, inhibitori de calcineurină, retinoizi; sistemic se apelează la β blocante sau clonidină; se pot asocia proceduri laser sau injecții cu toxină botulinică.

În RPP, tratamentul este ales în funcție de severitatea clinică. Din punct de vedere al tratamentului topic, prima opțiune este metronidazolul sau acidul azelaic, urmate de ivermectină, inhibitori de calcineurină sau retinoizi. Tratamentul sistemic se face cu doxiciclină, eritromicină sau metronidazol. Se poate folosi adjuvant tratament IPL pentru combaterea inflamației.

În rozaceea fimoasă sunt recomandate intervenții chirurgicale sau laser și tratament cu isotretinoin în doze mici.

Tratamentul rozaceei oculare este apanajul oftalmologilor. În general, prima linie constă în aplicare de picături oftalmologice cu antibiotic sau ciclosporină, iar cea de a doua, în tratamentsistemic cu antibiotic: doxiciclină, metronidazol sau macrolide.

În tratamentul rozaceei fulminans se prescriu doze mici de corticosteroizi.

Capitolul 3. Noțiuni teoretice despre stresul oxidativ

3.1 Stresul oxidativ

Stresul oxidativ reprezintă starea de dezechilibru dintre producerea speciilor reactive și îndepărtarea acestora prin sistemul de apărare antioxidativă a organismului, având drept rezultat lezare oxidativă la nivel celular și tisular.

Stresul oxidativ apare prin acumularea susținută a speciilor reactive de oxigen (SRO), ca urmare fie a producerii în exces a acestora, fie a depășirii capacității de apărare antioxidantă a organismului.

În prezența stresului oxidativ generator al unor cantități ample de SRO organismul face un efort de adaptare prin creșterea sintezei de antioxidanți. Antioxidanții pot să neutralizeze speciile reactive de oxigen definitiv sau pe o durată limitată, dacă condițiile prooxidative se mențin. Depășirea capacității mecanismelor de apărare duce inevitabil la lezarea oxidativă a celulelor, proces în care structuri intracelulare proteice, lipidice, fragmente ADN sau carbohidrați suferă modificări structurale și funcționale. În funcție de amploarea sau tipul acestor modificări apar perturbări ce pot determina inclusiv pierderea viabilității celulare și moarte celulară. Dacă celula are însă resursele necesare reparării sau înlăturării defectelor își asigură supraviețuirea în stare integră sau cu sechele rezultate în urma prezenței stresului oxidativ (73). Lezarea oxidativă a ADN-ului este precursora declanșării proceselor neoplazice.

3.2 Mecanisme cutanate de apărare împotriva stresului oxidativ

Antioxidanții sunt substanțele prin care organismul se opune stresului oxidativ. În 1999 Halliwell și Gutteridge (1999) au definit antioxidantul ca fiind o moleculă care la concentrație mică față de cea a substratului, încetinește sau împiedică oxidarea substratului (73).

Organismul deține un sistemul de apărare antioxidativă complex, alcătuit din variate substanțe antioxidante, endogene sau exogene: unele cu funcție enzimatică (superoxid dismutaza, catalaza, sistemul enzimatic al glutationului), altele constând în molecule cu masă mică, hidro sau lipofile. Rolul acestui sistem este de a menține un nivel echilibrat al speciilor reactive de oxigen, împiedicând oxidarea diversor molecule și distrugerea celulară. Un al doilea nivel de apărare e format din mecanismele de turn-over celular și din variate sisteme de raparație ale ADN.

Componentele sistemului de apărare antioxidativă pot fi clasificante astfel:

- antioxidanți proveniți din alimentație: acid ascorbic, carotenoizi, vitamina E, acid lipoic etc
- enzime antioxidante;
- metaloproteine: ceruloplasmină, feritină, lactoferină, albumină, transferină, mioglobină;
- antioxidanți endogeni cu greutate moleculară mică: acid uric, bilirubină, tioli, ubichinona, NADPH etc (74).

O altă clasificare împarte sistemul de apărare antioxidantă în compuși cu activitate enzimatică și compuși cu greutate moleculară mică, hidrofilii (vitamina C, glutatiunea, acidul uric) sau lipofili.

A. Superoxid dismutaza

Principala protecție a celulei împotriva radicalilor peroxinitrit și a $O_2^{\cdot-}$ o asigură superoxid dismutaza(SOD). Funcția SOD este de a neutraliza ionul înalt reactiv superoxid prin catalizarea conversiei acestuia în hidrogen peroxid și oxigen.

SOD este o metaloenzimă, al cărei centru activ reacționează cu cupru, zinc sau mangan și care are trei izoforme. În patologia umană modificările genetice ale expresiei SOD1 sunt legate de apariția sclerozei laterale amiotrofice familiale, leziuni oxidative ale ADN precursore neoplaziilor, diabet zaharat, sindrom Down, tulburări cardiovasculare etc (75, 76, 77). Nivelurile de SOD2 sunt scăzute în multe celule neoplazice și se pare că suplimentând nivelurile enzimei apare reversia fenotipului malign (78,79). Deficitul de SOD3 este implicat în leziuni de tip ischemie-reperfuție, lezări ale țesutului pulmonar, patologii cardiovasculare (insuficiență cardiacă, hipertensiune)(80).

Importanța SOD în biologie este subliniată de moartea datorată stresului oxidativ prin concentrații imense de ROS la șoarecii de laborator lipsiți de SOD2, la câteva zile după naștere(81).

B. Glutatiunea

Funcția principală a glutatiunii este de a interveni, datorită capacității sale de a dona electroni, în neutralizarea peroxidului de hidrogen, proces dirijat de glutatiunea peroxidază. În afara acestuia, alte specii reactive cu potențial de lezare oxidativă celulară, printre care alți peroxizi, sunt îndepărtate din organism prin intervenția glutatiunii (82).

La nivelul celulelor, glutatiunea există în stare liberă sau legat de proteine și are rol în apărarea celulară ne-enzimatică împotriva acțiunii oxidative a SRO.

Glutatiunea există în stare redusă (GSH) sau în formă oxidată (GSSG). Forma oxidată este formată din două molecule de GSH unite printr-o punte intermoleculară disulfhidrică. Glutatiunea în cele două forme ale sale contribuie alături de alte molecule la menținerea echilibrului redox al celulei. Raportul GSH/GSSG este frecvent utilizat ca și indicator al prezenței stresului oxidativ. În reticul, în condiții de homeostazie valoarea raportului GSH/GSSG este de aproximativ 3:1, pe când în citoplasmă este $>10 : 1$ și scade în prezența SRO (83,84). Astfel o scădere a concentrației GSH și a raportului GSH/GSSG sunt raportate în diverse patologii inflamatorii sau degenerative: poliartrită reumatoidă, boala Parkinson, boala Alzheimer, hepatită toxică, afecțiuni cardiovasculare și cerebrale ischemice, neoplazii, diabet zaharat, preeclampsie etc (84). Concentrații crescute ale GSH sunt caracteristice vârstnicilor fără tulburări somatice sau degradare psihică și au fost corelate cu o speranță de viață crescută (84).

C. Sistemul enzimatic al glutatiunii

Din sistemul de apărare antioxidantă face parte și sistemul enzimatic al glutatiunii, compus din glutatiunea peroxidaze și glutatiunea s-transferaze.

Glutation peroxidaza (GPx) este enzima care asigură neutralizarea peroxizilor organici, datorită restului de selenocisteină pe care îl conține și care este implicat activ în reacțiile de reducere, (deficitul de seleniu perturbă protecția antioxidantă).

Scăderea concentrației GPx a fost evidențiată în afecțiuni cardiovasculare, neoplazii, diabet zaharat, boli neurodegenerative, colecistită, urticarie, beta-talasemie, diabet, dializă etc. Pe de altă parte, creșterea expresiei genei a fost corelată cu reversia fenotipului malign al celulelor neoplazice pancreatice (85).

Glutation s-transferazele formează o suprafamilie de enzime ce asigură protecția celulară împotriva toxinelor sau compușilor chimici endo sau exogeni (pesticide, medicamente, substanțe carcinogene etc). Marea familie a enzimelor GST este împărțită în 3 superfamilii, în funcție de localizarea la nivelul celulei: citosolică, mitocondrială și microzomală. Cea mai importantă clasă de GST este α -GST capabilă de detoxifierea peroxizilor proveniți din acizi grași liberi, colesterol și fosfolipide (86). GST(izoenzima GSTP1-1)pare a fi implicată însă și în cazuri de rezistență a unor formațiuni tumorale solide la acțiunea medicamentelor și chiar în apariția neoplaziei (87).

Concentrație scăzută a GPx a fost evidențiată în afecțiuni caracterizate de stres oxidativ crescut: ateroscleroză, diabet zaharat, astm, boala Alzheimer, boala Parkinson etc.

Nivelul celor 2 enzime GPx și GST, precum și al SOD este controlat de sistemul Nrf2/Keap1. Acest lucru face ca nivelul GPx și GST din celule să fie variabil în funcție de nivelul SRO, spre deosebire de nivelul relativ stabil al glutatationului.

3.3 Markerii ai stresului oxidativ

SRO sunt compusi inalt reactivi cu durata scurtă de viață, uneori de nanosecunde, cum este de exemplu hidroxidul de oxigen. Din această cauză de cele mai multe ori SRO sunt foarte greu de cuantificat direct în țesuturi sau fluide. În schimb se evaluează nivelul produșilor rezultați din interacțiunea SRO cu diferite molecule- proteinele carbonilate, aldehide gen malondialdehidă, isoprostanii.

A. Proteinele carbonilate

Formarea proteinelor carbonilate este un indicator al prezeței stresului oxidativ agresiv.

În condițiile acumulării unui exces de specii reactive de oxigen, proteinele devin țintă a acestora și în consecință suferă modificări structurale, reversibile sau ireversibile, care le pot altera funcția (88).Proteinele carbonilate sunt relativ stabile pe o durată lungă de timp, ceea ce facilitează măsurarea concentrației lor(84, 89).

S-a observat că în bolile caracterizate de inflamație marcată (de exemplu poliartrită juvenilă, pancreatită acută, psoriazis) concentrația proteinelor carbonilate se corelează cu evoluția afecțiunii de bază, ceea ce ar putea face din aceste molecule un bioindicator al progresiei sau al răspunsului terapeutic (84). Alte afecțiuni care se corelează cu nivel plasmatic crescut al proteinelor carbonilate sunt: miocardită autoimună, astm, insuficiența renală, hepatită cronică, amiloidoză sistemică, sarcoidoză etc (84).

B. Produșii proteici de oxidare avansată

Prođușii proteici de oxidare avansată (AOPP) sunt rezultatul reacției dintre molecule oxidante clorinate sau a acidului hipocloros cu proteinele din plasmă. Acidul hipocloros se obține ca urmare a reacțiilor în care mieloperoxidaza secretată din leucocitele activate în condiții de stres oxidativ (prezența în cantitate crescută a H₂O₂) folosește ca substrat clorul⁽⁹⁰⁾. Din cauza cantităților plasmatice reduse de antioxidanți, proteinele plasmatice, în special albumina sunt sensibile la efectul oxidant al SRO ⁽⁹¹⁾. AOPP par a exercita efecte chemoattractante și de stimulare a activării leucocitelor, monocitelor și limfocitelor T prin mecanism autocrin ⁽⁹²⁾.

Acești produși intervin în declanșarea activității microbicide și în sinteza de TNF α , AOPP fiind nu doar markeri de stres oxidativ, dar și inductori ai inflamației ⁽⁹³⁾. Niveluri crescute de AOPP au fost demonstrate la pacienții dializați, la cei cu afecțiuni coronariene sau colită ulcerativă ⁽⁹⁴⁾.

C.Malondialdehida

Malondialdehida (MDA) este o ketoaldehidă rezultată în urma procesului de peroxidarea a acizilor grași polinesaturați omega-3 și omega-6, din fosfolipidele membranelor celulare sau din acid sialic și deoxiriboză, în prezența unor cantități excesive de radicali liberi de oxigen ⁽⁷³⁾. MDA poate difuza, astfel încât se poate leaga covalent de molecule ce conțin grupări amino aflate la distanță față de locul sintezei sale.

În afara producției non-enzimatice (lipooxigenarea acizilor grași), MDA se formează prin procese enzimatice, în care MDA este generat ca produs secundar în cadrul reacțiilor de sinteză ale tromboxanului A₂ (TXA₂) din acid arahidonic. MDA rezultat în mod obișnuit din TXA₂ pare să îndeplinească anumite funcții: este intermediar în unele căi de semnalizare și intervine în controlul expresiei unor gene ⁽⁹⁵⁾. MDA format în cantități crescute ca urma a stresului oxidativ, contribuie la propagarea efectelor stresului oxidativ: la rândul său MDA este capabilă de a modifica structura proteinelor, cărora le transferă grupări carbonil prin intermediul resturilor de cisteină, histidină sau lizină de pe catenele laterale ⁽⁸⁴⁾.

PARTE SPECIALĂ

Capitolul 4. Scopul și metodologia studiului

În cazul pacienților diagnosticați cu rozacee, ne propunem să studiem relația dintre stresul oxidativ sistemic și forma clinică a rozaceei, pornind de la studii recente care sugerează existența la nivel cutanat a dezechilibrului dintre oxidanți și antioxidanți, precum și de la corelația inflamație cronică – stres oxidativ sistemic, dat fiind că rozaceea este o afecțiune inflamatorie cronică cutanată.

Pentru atingerea acestui scop, au fost fixate mai multe obiective:

- pentru fiecare pacient inclus în studiu se vor măsura nivelurile serice ale următorilor:
 - parametrii de stres oxidativ: superoxid dismutaza, glutatoniul redus și oxidat, glutatoni peroxidază, glutatoni S transferaza, malondialdehidă, proteine carbonilate, produșii proteici de oxidare avansată, sideremia, transferina;
 - markeri ai inflamației: fibrinogen, viteza de sedimentare a hematiilor, proteina C reactivă;
 - fosfataza alcalină izoenzima intestinală;
- precum și a antigenului *Helicobacter Pylori*, din probe de materii fecale.
- se va urmări evidențierea diferențelor măsurătorilor între loturile de pacienți și lotul de martori sănătoși.

Activitatea de cercetare, desfășurată în cadrul prezentului studiu doctoral, a avut următoarele caracteristici:

1. Tipul studiului: prospectiv

2. Locația și perioada

Studiul doctoral s-a desfășurat în perioada octombrie 2014 – iulie 2015. În cadrul studiului au fost incluși pacienți diagnosticați cu rozacee, care au solicitat consult de specialitate în cabinetul de dermatologie al ambulatorului de specialitate aparținând Spitalului Clinic de Urgență “Sfântul Pantelimon” București. Diagnosticul de rozacee a fost stabilit în cadrul consultului respectiv.

3. Selecția pacienților

În studiu au fost incluși 42 de pacienți diagnosticați cu rozacee în perioada octombrie 2014- iulie 2015 și 28 de voluntari fără rozacee, alte afecțiuni dermatologice cronice sau alt tip de leziune dermatologică la momentul constituirii loturilor studiului. Toți indivizii care au participat la studiul doctoral au semnat consimțământul informat.

Am inclus în studiu pacienți cu rozacee, formă telangiectazică sau papulopustuloasă. Ulterior pacienții au fost împărțiți în două grupe în funcție de forma clinică de rozacee pe care o prezentau. Toți pacienții au fost supuși unui examen clinic obiectiv cutanat amănunțit, atât pentru a stabili diagnosticul de rozacee, cât și pentru a exclude alte afecțiuni dermatologice concomitente ce ar fi putut interfera cu rezultatele cercetării. Diagnosticul de rozacee și încadrarea într-o anumită formă clinică s-au realizat pe baza criteriilor clinice conform recomandărilor implementate de Comitetul de experți ai National Rosacea Society, organizație

americană leader în ceea ce privește cercetarea dedicată acestei boli (53)(54). De asemenea, menționăm că biopsia nu a fost necesară în nici unul dintre cazuri. Pentru o mai mare siguranță, diagnosticul a fost confirmat utilizând și criteriile dermatoscopice.

Lotul martor a cuprins voluntari fără istoric de rozacee sau semne și simptome datorate acestei afecțiuni sau unei alte boli dermatologice în momentul recrutării în studiu. Lotul control a fost format din persoane cu caracteristici de vârstă și sex asemănătoare celor aparținând lotului pacienților.

4.Criterii de excludere:

Din lotul de subiecți testat în cadrul studiului doctoral, au fost excluse persoanele ce făceau parte din următoarele categorii:

- Pacienți care suferă de afecțiuni sistemice inflamatorii;
- Pacienți care au alte afecțiuni dermatologice;
- Pacienții cu afecțiuni hepatice, cardiace, renale, tiroidiene, ulcer gastroduodenal;
- Pacienții cu neoplazii;
- Pacienții cu insuficiență de organ;
- Pacienții care au suferit în ultimul an intervenții chirurgicale;
- Pacienții cu imunodeficiență indiferent de cauză;
- Pacienții care au urmat în ultimele 6 luni tratamente sistemice (inclusiv administrare de vitamine);
- Femeile însărcinate, lăuzele sau mamele care alăptează;
- Pacienții care nu au împlinit 18 ani până în momentul înrolării în studiu;
- Fumătorii sau consumatorii de alcool;
- Pacienții care au refuzat să semneze consimțământul informat;
- Pacienții care au refuzat prelucrarea datelor paraclinice în orice moment al studiului doctoral.

5.Completarea formularului indexului dermatologic al calității vieții (DLQI) de către fiecare pacient participant la cercetare.

6.Analiza probelor de sânge:

Probele de sânge au fost recoltate dimineața a jeun. Imediat după recoltarea unei probe de aproximativ 10ml, aceasta a fost centrifugată în vederea separării eritrocitelor de plasmă, la 1500 de rotații pe minut, timp de 10 minute. Plasma astfel obținută a fost depozitată la o temperatură de -40 grade Celsius, în vederea estimării ulterioare a parametrilor de stres oxidativ.

În același timp au fost prelevate probe de sânge pentru efectuarea următoarelor analize de laborator: hemoleucogramă, proteina C reactivă, viteza de sedimentare a hematiilor, fibrinogen, glicemie, colesterol total, trigliceride, uree serică, creatinină serică, acid uric, TGO, TGP, sideremia, transferina. S-au prelevat probe din materii fecale pentru evaluarea prezenței antigenului *Helicobacter Pylori*.

7. Analiza statistică:

Pentru analiza statistică s-au folosit următoarele teste: Student's *t*-test sau testul Anova one way analysis of variance (diferențele semnificativ statistice au fost cele pentru care valoarea *p* a fost mai mică de 0,05), analiza Toolpak din programul Excel, testele statistice de normalitate Kolmogorov-Smirnov și Shapiro-Wilk.

Capitolul 5. Caracteristicile loturilor de pacienți

În studiul doctoral au fost incluși 42 de pacienți diagnosticați cu rozacee: 26 de pacienți (61,90%) cu rozacee eritematotelangiectazică, respectiv 16 pacienți (38,01%) cu rozacee papulopustuloasă. Lotul martor a cuprins 28 de voluntari sănătoși.

Datele demografice:

1. Dintre cei 26 de pacienți subgrupul RET al lotului de pacienți, cu o medie a vârstei de 51,26 ani: 15 au fost de sex feminin (58%), respectiv 11 au fost de sex masculin (42%), cu un raport în funcție de sex F/B de 1.36: 1; 9 pacienți prezentau fototip Fitzpatrick II (35%), în timp ce 17 pacienți au avut fototip III (65 %).

Toți pacienții au acuzat senzație de arsură și înțepătură la nivelul tegumentului facial: majoritatea au apreciat senzația de arsură ca fiind de intensitate ușoară, în timp ce aproximativ o treime au acuzat o intensitate severă a senzației cutanate faciale.

Toți pacienții prezentau eritem facial persistent a cărui intensitate a fost evaluată ca fiind severă, moderată sau ușoară conform îndrumărilor NRSEC, precum șitelangiectazii ramificate arborescent sau liniare la nivelul pomeților, a căror densitate a fost cuantificată în evaluarea inițială a fiecărui pacient, ținând cont de recomandările NRSEC. Dintre pacienți aproximativ 40% au avut eritem facial persistent de intensitate severă. Unii dintre pacienți prezentau telangiectazii dispuse și la nivelul piramidei nazale, a bărbiei și decolteului.

2. Dintre cei 16 de pacienți subgrupul RPP al lotului de pacienți, cu o medie a vârstei de 51,25 ani: 10 (62.5%) au fost de sex feminin, respectiv 6 au fost de sex masculin (37.5%), cu un raport în funcție de sex F/B de 5: 3 (1.6:1); 10 pacienți au avut fototip III (35%), 5 pacienți fototip II (65 %) și 1 pacient fototip IV.

A fost evlualt numărul leziunilor inflamatorii dispuse la nivel facial. Un singur pacient a avut între 15 și 20 de leziuni și nici un pacient nu a depășit pragul de 20 de leziuni faciale.

3. Dintre cei 28 de martori, cu o medie a vârstei de 48.28 ani: 17 au fost de sex feminin (61%), respectiv 11 au fost de sex masculin (39%), cu un raport în funcție de sex F/B de 1.54: 1; 15 indivizi au avut fototip III (53%); 8 indivizi fototip II (29 %) și 5 fototip Fitzpatrick IV(18%).

Toți pacienții cu rozacee au completat formularul DLQI.

Afectarea calității vieții nu s-a corelat cu prezența inflamației clinice.

Din totalul pacienților, 3 pacienți (7,14%), toți bărbați, diagnosticați cu RET nu prezintă afectarea calității vieții. 16 pacienți au indicat o afectare moderată a calității vieții, în timp ce 10 pacienți au acuzat o afectare severă a calității vieții (9 au fost femei , 5 cu RPP și 4 cu RET și 1 bărbat diagnosticat cu RET formă severă). Indiferent de forma de rozacee, pacientele au obținut scoruri individuale mai mari la calcularea indicelui DLQI, indicând un

grad mai mare a afectării calității vieții la sexul feminin. Majoritatea pacienților diagnosticați cu RET au afectare minimă a vieții, spre deosebire de cei diagnosticați cu RPP care au în general afectare moderată a vieții.

Capitolul 6. Activitatea pro și antioxidantă în serul pacienților cu rozacee

6.1.Evaluarea antioxidantilor din serul pacienților versus martori

Dintre enzimele sistemului enzimatic antioxidant am studiat activitatea enzimatică a superoxid dismutazei (SOD) și a enzimelor sistemul enzimatic al glutatationului, respectiv glutatation peroxidaza (GPx) și glutatation s-transferaza (GST). Toate activitățile enzimatică au fost exprimate sub formă de număr de unități per mg de proteine.

Dintre antioxidanții neenzimatici am investigat concentrația glutatationului redus (GSH), considerat antioxidant neenzimatic esențial al organismului.

Dintre metalele tranziționale implicate în procesele de oxidoreducere esențiale pentru desfășurarea normală a activității metabolice a organismului și cu posibile variații în funcție de gradul stresului oxidativ, am studiat statusul fierului.

Alături de fier am evaluat și nivelul transferinei, glicoproteina care leagă reversibil fierul și îl transportă în forma Fe(III) în sânge. Transferina controlează nivelul plasmatic de fier liber. Transferina este considerată a fi un reactant de fază acută de tip negativ deoarece în reacțiile inflamatorii acute cantitatea de transferină scade. Scade de asemenea în neoplazii sau diverse afecțiuni. Alt rol recunoscut al acestei proteine este acela de a favoriza creșterea celulară via receptor celular de legare a transferinei.

Toate testele au fost efectuate în triplu exemplar. Analiza statistică s-a făcut cu testul T Student, considerând semnificative din punct de vedere statistic diferențele cu valoare p mai mică de 0.05. Pachetul de analiză statistică a programului Excel Toolpak Analysis a fost utilizat pentru calcularea coeficientului de corelație dintre variabile. Cele trei loturi nu au avut diferențe semnificative statistic în ceea ce privește indicatorul vârstă sau indicele de masă corporală, deci nu au necesitat ajustări.

Activitățile enzimatică ale superoxid dismutazei și glutatation peroxidazei au fost semnificativ crescute la pacienții cu rozacee, față de lotul control. Între cele două grupe de pacienți RET și RPP nu s-au obținut însă diferențe semnificative statistic.

Creșterea activității enzimatică a superoxid dismutazei la cele 2 loturi RET și RPP față de lotul control a fost de 54% pentru lotul RET respectiv 45% pentru lotul RPP. Rezultatele arată o creștere net superioară pentru superoxid dismutază comparativ cu cea înregistrată în cazul activității enzimatică a glutatation peroxidazei.

Activitatea glutatation peroxidazei s-a mărit cu 19 % la grupul RET respectiv cu 23% pentru grupul RPP.

Activitatea enzimatică a glutation S transferazei a fost scăzută semnificativ la pacienții cu rozacee față de control, cu 19% pentru lotul RET față de 23% pentru forma RPP.

Nivelul seric al glutationului redus a fost semnificativ crescut la indivizii diagnosticați cu rozacee față de martori, dar de asemenea fără diferențe semnificative între cele 2 loturi RET și RPP. În cazul lotului RET creșterea a fost de 10%, iar pentru lotul RPP de 9%.

Nivelul seric al transferinei a scăzut la pacienții cu rozacee, mai accentuat în serul celor diagnosticați cu RPP față de cei cu RET. Totuși diferențele față de valorile înregistrate în lotul martor nu sunt semnificative din punct de vedere statistic. Asemănător valorilor transferinei, la pacienții cu rozacee observăm o scădere a sideremiei, mai amplă în cazul celor din grupa RPP. De asemenea nu am obținut diferențe semnificative între valorile loturilor.

Coeficientul de saturație al transferinei a crescut atât la grupul de pacienți cu RET cât și la cei cu RPP. Aceste creșteri nu sunt semnificative din punct de vedere statistic.

Rezultatele obținute în studiul nostru indică prezența modificărilor parametrilor de stres oxidativ în serul pacienților diagnosticați cu rozacee. Modificările au fost evidente în serul pacienților, indiferent de forma clinică de rozacee. În plus se observă că între cele două forme de rozacee, RET respectiv RPP diferențele între parametrii studiați sunt în aceeași direcție.

Din analiza statistică a rezultat că nu există corelații cu alți parametrii, cum ar fi: vârsta, sexul, indicele de masă corporală sau valorile glicemiei sau ale profilului lipidic, între cele trei loturi neexistând diferențe semnificative statistic din punct de vedere al acestor indicatori. Astfel am exclus interferențe asupra statusului stresului oxidativ din partea altor afecțiuni care sunt asociate în literatura de specialitate cu o dezvoltare a stresului oxidativ, cum ar fi de exemplu diabetul zaharat, dislipidemia sau sindromul metabolic.

În studiul nostru, activitatea enzimatică de apărare antioxidantă este crescută atât în cazul SOD cât și a GPX, iar nivelul GSH este crescut pentru ambele categorii de pacienți.

Atât SOD cât și GPX au activitate enzimatică semnificativ crescută la pacienți comparativ cu lotul martor ($p \text{ SOD} < 0.01$; $p \text{ GPX} < 0.001$). Acest fapt sugerează încercarea organismului de a ține sub control și de a limita efectele stresului oxidativ la pacienții cu rozacee.

Valoarea GSH-ului este de asemenea crescută, dar în procent mai mic față de creșterea SOD sau GPX. Creșterea concentrației GSH probabil susține creșterea activității antioxidative a GPX.

Surprinzător este însă rezultatul obținut în acest context al activității enzimatică a GST.

După știința noastră, până în acest moment nu a mai fost evaluată valoarea serică a GST la pacienți cu rozacee.

În studiul nostru activitatea acestei enzime este semnificativ scăzută în cazul tuturor pacienților. Totuși în lotul indivizilor cu forma clinică RPP activitatea enzimatică înregistrează o scădere mai accentuată față de lotul celor diagnosticați RET, fără a avea însă o diferență semnificativ statistică între forme. Deficitul mai accentuat al GST este astfel asociat cu forma de rozacee al cărei tablou clinic ilustrează un grad crescut al inflamației.

Inflamația este generatoare de stres oxidativ astfel încât neutralizarea SRO în rozacee suprasolicitează sinteza unui antioxidant suspectat de a avea defecte genetice de sinteză.

În plus, faptul că GST joacă un rol central în apărarea tisulară și celulară împotriva speciilor electrophilice la persoanele sănătoase, este un argument suplimentar care susține posibilitatea ca deficitul GST să aibă un rol important în etiopatogenia rozaceei.

În anul 2006, Yazici și colegii au sugerat în studiul lor că activitatea crescută a SRO sau scăderea apărării antioxidative la pacienții ce poartă diagnosticul de rozacee sunt determinate de un defect genetic și anume un polimorfism al GST⁽⁴⁰⁾.

În general scăderea activității GST a fost corelată cu dezvoltarea neoplaziilor de tract gastrointestinal sau respirator.

Scăderea valorilor sideremiei este în conformitate cu rezultate din literatura de specialitate și reprezintă un indicator al perturbării homeostaziei fierului la pacienții cu rozacee.

Transferina este măsurată pentru prima dată la momentul efectuării acestui studiu ca parte a evaluării globale a statusului stresului oxidativ la pacienții cu rozacee.

Date din literatura medicală arată că prezența SRO are multiple consecințe, printre care și pe aceea a tulburării traficului și legării de receptori membranari specifici în cazul proteinei căraș a fierului circulator. De asemenea apare un deficit al reciclării transferinei prin mecanismul transportului extracelular al transferinei internalizate⁽⁹⁶⁾.

Astfel, scăderea nivelului transferinei deși fără semnificație statistică susține existența stresului oxidativ la pacienții cu rozacee participanți la studiu.

În mod normal scăderea sideremiei determină printr-o relație de invers proporționalitate stimularea sintezei transferinei. În studiul nostru atât sideremia cât și transferina au valori scăzute, ceea ce sugerează o perturbare a căilor de metabolizare ale transferinei, posibil deficit important de externalizare a transferinei pătrunsă în celule pentru aprovizionarea cu fier a acestora. Acest fapt este susținut și de scăderea saturației transferinei. Deși pare surprinzătoare la prima vedere având în vedere că atât sideremia cât și transferina au scăzut, indică de fapt o scădere mai accentuată a transferinei din sânge comparativ cu scăderea sideremiei și este un argument în plus pentru perturbările externalizării transferinei.

6.2. Evaluarea markerilor de stres oxidativ din serul pacienților versus martori

În cadrul studiului am evaluat nivelurile proteinelor carbonilate și a AOPP ca marker al efectului stresului oxidativ asupra proteinelor și nivelul malondialdehidei, moleculă cu potențial mutagen și de propagare la distanță a efectelor stresului oxidativ, ca marker al efectului stresului oxidativ asupra lipidelor în serul pacienților cu rozacee, forme clinice diferite.

În general, acești markeri de stres oxidativ au fost asociați cu inflamație și risc crescut al apariției patologiilor cardiovasculare. În literaturade specialitate sunt prezentate asocieri ale rozaceei cu diverse afecțiuni cardiovasculare.

În cadrul studiului, am înregistrat creșteri semnificative statistic ale valorilor malondialdehidei (MDA) față de valorile martorilor sănătoși. Diferențe semnificative au apărut și între valorile celor două loturi de pacienți, în cazul lotului RET creșterea fiind de aproximativ 92% față de o creștere de 129% pentru lotul RPP.

Concentrația grupărilor carbonil, marker al modificărilor structurale ale proteinelor în condiții de stres oxidativ, a fost net crescută la indivizii afectați de rozacee, față de martori (dublarea valorilor). În lotul RET creșterea a fost de 103% față de o creștere de 131% la cei din lotul RPP.

În ceea ce privește produșii proteici de oxidare avansată, creșterea acestora la pacienți față de martori a fost moderată: 45% pentru pacienții cu RET și 49% pentru cei cu RPP.

În urma măsurătorilor de laborator am demonstrat prezența în serul pacienților cu rozacee a produșilor derivați din lipide sau proteine sub acțiunea stresului oxidativ: malondialdehidă, grupări carbonil (CO) și produși proteici de oxidare avansată (AOPP). Nivelul crescut al acestora, indiferent de forma de rozacee, comparativ cu cel înregistrat la indivizi sănătoși, indică existența unei cantități excesive a SRO care depășește posibilitățile de neutralizare ale organismului. Diferențele între pacienți și martori sunt înalt semnificative statistic ($p < 0.01$ pentru fiecare parametru măsurat).

În plus am observat că între cele două forme clinice apar diferențe, forma cu inflamație evidentă clinic asociindu-se cu o concentrație mai mare a tuturor markerilor de stres oxidativ urmăriți. Totuși aceste diferențe între loturile RET și RPP nu sunt, cel puțin în cazul studiului nostru, semnificative din punct de vedere statistic.

În concluzie, rozaceea în mod global este o afecțiune în care stresul oxidativ are rol etiologic. Nu se poate asocia însă gradul superior al inflamației din RPP cu un nivel net crescut al MDA, CO sau AOPP, ci doar cu o tendință către o ascensiune ușor mai mare a concentrațiilor serice ale acestora.

Aceste concluzii confirmă studiile despre existența stresului oxidativ la nivel tisular în rozacee, publicate în literatura de specialitate. Stresul oxidativ reflectat de modificări în serumul pacienților diagnosticați cu rozacee a fost mai puțin investigat. La o primă cercetare am identificat informații despre scăderea peroxizilor lipidici serici și a potențialul antioxidant seric total la pacienți cu rozacee.

Studiul doctoral a evidențiat un nivelul crescut al malondialdehidei, moleculă indicator al peroxidării excesive a lipidelor în condițiile producției amplificate a ROS. Acumularea MDA are drept consecință propagarea efectelor stresului oxidativ aflat la baza producerii de ROS datorită capacității crescute a MDA de a interacționa cu o diversitate de biomolecule, printre care proteine și ADN-ul.

În condiții de stres oxidativ nu doar lipidele sunt alterate, ci și proteinele. Secundar producerii în exces a SRO se remarcă perturbarea configurațiilor structurale ale proteinelor, în acest mod explicându-se acumularea de CO și AOPP.

Din câte știm, acesta este primul studiu care și-a propus măsurarea nivelurilor serice ale CO și AOPP la pacienți cu rozacee. Creșterea lor este un argument în plus în susținerea ipotezei rolului stresului oxidativ în etiopatogenia afecțiunii.

6.3 Activitatea antioxidantă totală; activitatea oxidantă totală

Activitatea antioxidantă totală a fost calculată ca și sumă a valorilor relative ale SOD, GPx, GST și GSH. Activitatea oxidantă totală a fost apreciată ca și sumă a valorilor relative ale MDA, CO și AOPP.

Pentru cele două loturi de pacienți corelația dintre activitatea antioxidantă, respectiv oxidantă a fost puternic pozitivă, cea mai puternică pozitivă corelație observându-se între valorile SOD și cele ale GSH în cazul lotului RPP, respectiv între nivelurile GPx și ale GSH în cazul lotului RET. Din punct de vedere al activității GST, s-au obținut corelații negative indiferent de forma clinică de rozacee.

Capitolul 7. Evaluarea markerilor inflamației din serul pacienților versus martori

Pentru a evalua prezența sindromului inflamator la pacienții cu rozacee, atât în cazul formei RET cât și a RPP, am calculat concentrația fibrinogenului, concentrația proteinei C reactive (CRP) și viteza de sedimentare a hematiilor (VSH), drept markeri ai inflamației.

Toți cei trei markeri de sindrom inflamator au avut valori mai mari la pacienții cu rozacee față de indivizii sănătoși.

Fibrinogenul are valoare ușor crescută la pacienții cu RET, însă fără semnificație statistică și o valoare semnificativ crescută la cei cu forma clinică RPP.

Proteina C reactivă a crescut față de nivelul determinat în cazul martorilor, la ambele loturi de pacienți, RET respectiv RPP, dar creșterea a fost semnificativă statistic doar la cei cu RPP.

Viteza de sedimentare a hematiilor este de asemenea crescută, dar fără semnificație statistică la pacienții cu RET. La cei cu RPP creșterea VSH este semnificativă statistic

Măsurătorile efectuate pentru indivizii celor trei loturi pentru cei trei markeri de inflamație indică valori crescute ale acestora în plasma pacienților, indiferent de forma clinică de rozacee. Totuși există diferențe între pacienții cu RET și cei diagnosticați cu RPP.

La pacienții cu RET valorile fibrinogenului, VSH și cele ale PCR creșterile sunt ușoare, fără semnificație statistică. Acest fapt se potrivește datelor prezentate în literatura de specialitate care certifică prezența inflamației în rozacee din primele stadii ale bolii, chiar în lipsa expresiei clinice a inflamației. Astfel studii histopatologice și de imunohistochimie au

arătat prezența în rozacee din stadiile timpurii a unei peptide derivate din catelicidină (LL37) cu funcții de inducție a inflamației celulare. LL37 este clivată din catelicidină sub acțiunea kalikreinei 5, triptază prezentă în concentrații anormal de mari în tegumentul pacienților cu rozacee.

În cazul pacienților cu RPP toate valorile sunt crescute semnificativ statistic față de valorile calculate la martorii sănătoși. Această creștere se potrivește cu nivelul crescut al inflamației tisulare în RPP față de RET, în RPP leziunile fiind de natură inflamatorie. Din cauza inflamației care la unii indivizi este marcată, forma de RPP a fost etichetată drept o celulită cronică sterilă (97). De altfel multe dintre terapiile utilizate în tratamentul rozaceei, fie topice, fie sistemice au la bază mecanisme de acțiune antiinflamatorii prin care sunt modulați mediatorii ai inflamației și inhibate chemotactismul și activarea celulelor inflamatorii. De exemplu metonidazolul larg folosit în RPP, în afară de efect antiparazitar, previne activarea neutrofilelor și astfel eliberarea radicalilor liberi implicați în etiopatogenia leziunilor de rozacee, în timp ce acidul azelaic și doxiciclina inhibă kalikreina 5 (98).

Prezența inflamației în plasma pacienților indică un risc accentuat de dezvoltare a bolilor caracterizate de inflamație la cei diagnosticați cu rozacee. De altfel sunt descrise asocieri ale rozaceei cu afecțiuni cardiovasculare, boli inflamatorii intestinale sau ale tractului respirator.

Capitolul 8. Nivelurile glicemiei, colesterolului, respectiv trigliceridelor la pacienții cu rozacee versus martori sănătoși

Atât la indivizii cu RET cât și la cei cu RPP valorile evaluate ale glicemiei au fost mai mici, cu scădere mai mare în cazul celor diagnosticați cu RET. Diferențele nu au fost semnificative statistic.

Valorile colesterolului au fost mai mici la indivizii cu RET față de martori. La grupul pacienților RPP colesterolul a avut nivel mai mare decât la martori. Nici o diferență nu a avut semnificație statistică.

Nivelul trigliceridelor a fost crescut pentru pacienții cu RET dar și pentru cei cu RPP. În cazul lotului RPP creșterea a fost superioară celei de la lotul RET, dar calculul statistic a indicat $P > 0.05$.

Măsurătorile nivelurilor colesterolului la indivizii incluși în studiu indică o creștere a valorilor în cazul pacienților diagnosticați cu RPP față de martorii sănătoși. Această creștere nu se menține la pacienții diagnosticați cu RET, dimpotrivă valorile colesterolului fiind inferioare celor din grupul martor.

O posibilă explicație a valorilor mai scăzute ale glicemiilor la pacienții cu rozacee poate fi o dietă săracă în glucide la care aderă bolnavii, în special cei cu leziuni papulopustuloase, dulciurile fiind populare asociate cu apariția sau agravarea leziunilor acneiforme.

În ceea ce privește modificările colesterolului total, acestea nu sunt surprinzătoare având în vedere majoritatea relațiilor din literatura de specialitate (99). Pe de altă parte, creșterea colesterolului este atribuită efectelor inflamației cronice asupra proteinelor implicate în

transportul și clearance-ul colesterolului, inflamația cronică evidentă clinic fiind apanajul rozaceei papulopustuloase.

Colesterolul total crescut este considerat factor de risc major în dezvoltarea patologiilor cardiovasculare și prin urmare putem considera că rozaceea, cel puțin formele sale inflamatorii, se asociază cu risc de apariție a tulburărilor cardiovasculare.

În plus, la pacienții din studiu, trigliceridele crescute, dar și amplificările fibrinogenului, VSH, respectiv PCR majorează riscul de formare a plăcilor aterosclerotice ce predispun la boli ischemice vasculare față de lotul martor.

Pe de altă parte un articol publicat în 2016 a arătat că în populația investigată rozaceea nu s-a asociat cu risc crescut de infarct, accident vascular cerebral sau mortalitate din cauză cardiovasculară (100).

În concluzie rozaceea se asociază cu dislipidemie, ceea ce impune o verificare a fiecărui pacient pentru identificarea și evaluarea riscului individual de a dezvolta patologii cardiovasculare.

Capitolul 9. Activitatea enzimatică a izoenzimei intestinale a fosfatazei alcaline la pacienții cu rozacee versus martori sănătoși

În cadrul studiului doctoral a fost evaluată activitatea enzimatică a FAI la pacienți diagnosticați cu forme clinice diferite de rozacee. Pentru a verifica dacă stresul oxidativ evidențiat în formele de rozacee ar putea fi corelat cu modificarea activității enzimatică a FAI, toate valorile fiind normal distribuite am apelat la testul statistic al coeficientul de corelație al lui Pearson.

Dintre toate testele statistice efectuate pentru a cerceta corelația dintre valorile FAI și cele ale antioxidanților, respectiv markerilor de stres oxidativ evaluați în capitolul 6, am obținut corelație semnificativ statistică doar între valorile FAI și SOD.

Activitatea enzimatică a fosfatazei alcaline a fost evaluată pe un subgrup format din 26 de pacienți, 17 femei (vârsta medie 39.58 ani) respectiv 9 bărbați (vârsta medie 53.22 ani) și un lot martor ce a cuprins 16 femei (vârsta medie 41.81 ani), respectiv 7 bărbați (vârsta medie 47.42 ani). Cele două loturi au fost comparabile în ceea ce privește distribuția pe sexe și pe categorii de vârstă. Loturile au fost obținute din loturile pentru care s-a evaluat prezența stresului oxidativ. Indivizii au fost ultimii incluși în studiul stresului oxidativ la pacienți cu rozacee.

Astfel activitatea enzimatică a fosfatazei alcaline totale a participanților s-a situat în limitele considerate normale.

Pentru lotul pacienților activitatea enzimatică a fosfatazei alcaline izoenzima intestinală a avut o valoare medie de 2.1 IU/L, în timp ce în lotul martor valoarea medie a fost de 3.78 IU/L. Valoarea nedetectabilă a FAI (0 IU/l) este mai frecventă în lotul de bolnavi (14 indivizi-6 pacienți cu RET și 7 pacienți cu RPP) comparativ cu lotul martor (10 indivizi), în

timp ce în grupul martor se regăsesc cele mai mari valori (aflate în limita normalului)(13.17 IU/L; 13.77 IU/L; 14.97 IU/L), dar și mai puține valori mici. Aceste observații sugerează că deși nu avem diferențe semnificative statistic în acest studiu, la pacienții cu rozacee activitatea enzimatică a FAI este sub cea a martorilor.

Diferențe semnificative din punct de vedere statistic am evidențiat între lotul pacienților cu forma clinică RPP și lotul martor. Astfel în forma caracterizată de inflamație a rozaceei activitatea enzimatică a FAI este net inferioară celei înregistrată la martorii sănătoși. Acest fapt ar putea sugera legătura de cauzalitate dintre rozacee și activitatea enzimei și un posibil rol pentru FAI în etiopatogenia bolii. O supoziție plauzibilă este cea a unui defect al FAI la pacienții cu rozacee, care pare să fie cu atât mai evident clinic cu cât gradul inflamației crește. FAI are rol important în prezervarea echilibrului microclimatului sistemului gastrointestinal, fiind enzimă responsabilă de reglarea pasajului peptidelor cu rol biologic eliberate în lumen, în fluxul sangvin via suprafața luminală a celulelor marginale. FAI intervine de asemenea în limitarea răspunsului inflamator declanșat de prezența microorganismelor patogene în flora intestinală. Astfel posibile defecte cantitative/calitative în activitatea enzimatică a FAI la pacienți cu rozacee pot fi demascate în condiții de suprasolicitare secundare focarelor inflamatorii cu origine gastrointestinală induse de dismicrobioză sau apărute pe fondul consumului excesiv al unor alimente sau băuturi cunoscute a fi atât factori trigger pentru acutizări ale rozaceei și în același timp modulatori ai activității FAI. Scăderea eficienței FAI ca și gardian permite pasajul în cantitate crescută al moleculelor vasoactive cum sunt de exemplu peptidul intestinal vasoactiv, secretina sau gastrina cu efecte de vasodilatație și agravare a tabloului clinic al rozaceei.

Aceste supoziții deschid calea unor noi posibile abordări terapeutice ale rozaceei și anume suplimentarea FAI la cei cu forme inflamatorii ale rozaceei. Pentru cei cu rozacee, indiferent de formă clinică, alimentația alcalinizantă poate fi benefică prin stimularea unei bune funcționări a acestei enzime cheie pentru homeostazia intestinală. De altfel, până în acest moment administrarea intravenoasă sau peros a FAI si-a demonstrat eficiența la pacienți cu patologie intestinală inflamatorie, dar sunt necesare investigații suplimentare atât ale activității FAI, precum și ale defectelor sale genetice sau dobândite pe loturi ample de pacienți diagnosticați cu rozacee pentru a clasa definitiv legătura dintre FAI și rozacee.

Capitolul 10. Infecția Helicobacter Pylori la pacienții cu rozacee versus martori sănătoși

O altă ipoteza în ceea ce privește etiopatogeneza rozaceei implică în apariția afecțiunii cutanate, infecția cu bacteria gram negativ Helicobacter pylori a tubului gastrointestinal.

În lotul martor 42,9 % dintre voluntari au avut antigen Helicobacter pylori prezent în probele prelevate din scaun. În lotul pacienților cu rozacee forma RET 30,8 % au avut probe pozitive pentru H.pylori, comparativ cu 50 % dintre pacienții diagnosticați cu RPP.

Astfel în studiul nostru infecția cu *H. Pylori* este mai frecvent întâlnită în rândul martorilor decât a pacienților cu formă RET, concluzia fiind că cel puțin în această formă a bolii infecția cu *H. Pylori* este o comorbiditate și nu este implicată în etiopatogeneza.

În cadrul studiului doctoral, nu există diferențe semnificative între prevalența infecției *H. pylori* în cadrul loturilor bolnavilor comparativ cu lotul martor, deși frecvența infecției este mai ridicată la indivizii incluși în lotul RPP comparativ cu cei ai lotului martor.

Acest fapt sugerează că cel puțin în cazul de față această infecție este o comorbiditate și nu cauza apariției rozaceei. De asemenea se poate spune că nu infecția *H. pylori* este responsabilă de modificările markerilor de stres oxidativ la cei cu rozacee față de martorii sănătoși. Rezultatele studiului sunt în concordanță cu cele publicate în literatura de specialitate de un grup de cercetători turci, care au investigat legătura dintre infecția cu *H.pylori*, rozacee și stres oxidativ, deși autorii au evaluat doar activitatea enzimatică a SOD și nivelul MDA în plasma pacienților cu rozacee (101).

Capitolul 11. Formularea contribuțiilor și a elementelor de originalitate ale tezei, precum și a concluziilor studiului

Identificarea unor noi aspecte ale etiopatogeniei rozaceei are drept consecințe mărirea arsenalului terapeutic al acestei afecțiuni, prin propunerea în viitor, a unor noi posibile abordări curative.

Studiul doctoral prezentat a avut drept scop evaluarea serologică a stresului oxidativ în etiopatogeneneză rozaceei. Pentru îndeplinirea acestui obiectiv designul studiului a inclus analiza prospectivă în cazul celor 42 de pacienți diagnosticați cu rozacee, forme clinice diferite, precum și a celor 28 de martori sănătoși a valorilor:

- antioxidanților reprezentați de: antioxidanți serici enzimatici (superoxid dismutazei - SOD, glutatation peroxidaza - GPx și glutatation s-transferaza - GST ce fac parte din sistemul enzimatic al glutatationului), a antioxidantului neenzimatic glutatation redus – GSH, a fierului (metal tranzițional participant la procese de oxidoreducere), a transferinei (reactant de fază acută de tip negativ)
- markerilor de stres oxidativ reprezentați de: proteinele carbonilate, produșii proteici de oxidare avansată – AOPP, malondialdehidei – MDA
- VSH, fibrinogenului, PCR ca markeri ai inflamației
- glicemiei, trigliceridelor și colesterolului ca indicatori ai riscului de apariție a sindromului dismetabolic sau a unei patologii cardiovasculare în evoluția rozaceei.

Rezultatele obținute au indicat prezența stresului oxidativ în serul pacienților comparativ cu cel al martorilor sănătoși, dar și riscul bolnavilor de a dezvolta patologii asociate în care inflamația secundară dezechilibrului oxidativ are rol etiologic important. Până în acest moment acesta este singurul studiu de acest fel realizat în țara noastră.

În al doilea rând am evaluat nivelul activității enzimatice serice a fosfatazei alcaline izoenzimă intestinală - FAI și prezența infecției tubului gastrointestinal cu *Helicobacter*

pylori prin identificarea antigenului H.pylori în mostre de scaunprelevate de la indivizii înrolați în studiu. Totodată am verificat dacă acești parametri ar putea fi inductorii stresului oxidativ în rozacee, infecția cu H. pylori și mai nou deficitul FAI fiind două dintre ipotezele etiopatogenice propuse în cazul rozaceei. Aceste investigații din cadrul lucrării sunt de asemenea efectuate pentru prima dată în țara noastră.

Concluziile acestui studiu prospectiv permit susținerea rolului etiopatogenic al stresului oxidativ în rozacee și reprezintă un argument pentru continuarea cercetării prin evaluarea efectelor terapeutice ale administrării de molecule cu capacitate antioxidantă sau a FAI la pacienți cu rozacee, în special a celor ce dezvoltă forme inflamatorii accentuate.

Diagnosticul rozaceei a fost stabilit folosind criteriile clinice și paraclinice (dermatoscopie). În nici unul dintre cazuri nu a fost necesară prelevarea biopsiei cutanate pentru diagnostic de certitudine. Pacienții au fost incluși în studiu în ordinea solicitării consultului medical și a respectării criteriilor de includere. Astfel 2/3 dintre bolnavi au fost diagnosticați cu rozacee eritematotelangiectazică (RET), iar o treime cu rozacee papulopustuloasă (RPP). Doi pacienți au prezentat concomitent RPP și rozacee oculară, iar unul rinofimă și RPP.

Vârstele medii ale participanților la studiu diagnosticați cu rozacee ($V_{\text{martor/RET/RPP}} = 48,28 \text{ ani} / 51,26 \text{ ani} / 51,25 \text{ ani}$) cât și distribuția pe sexe ($F:B_{\text{martor/RET/RPP}} = 1,54:1 / 1,36:1 / 1,6:1$) în loturile de pacienți sunt similare între ele și în concordanță cu cele din literatura de specialitate.

Severitatea simptomelor (eritem facial persistent, senzația de arsură/înțepătură resimțită de pacienți, densitatea telangiectaziilor faciale, densitatea elementelor inflamatorii – papule/pustule) au fost evaluate conform recomandărilor NRSEC.

Am evaluat de asemenea impactul formei clinice de rozacee asupra calității vieții prin analiza formularului DLQI completat de pacienți și am concluzionat că afectarea calității vieții nu s-a corelat cu severitatea rozaceei sau intensitatea clinică a inflamației. Indiferent de forma clinică, femeile au indicat afectare mai severă a calității vieții. În cadrul studiului, pentru 7% dintre pacienți rozaceea nu a influențat calitatea vieții; o treime dintre pacienți au prezentat afectare minimă (majoritatea acestor pacienți fiind diagnosticați cu RET), două cincimi au prezentat afectare medie și o cincime afectare severă (5 bolnavi cu RPP și 4 pacienți cu RET).

Am evaluat activitățile enzimelor cu rol antioxidant SOD, GPx, GST și nivelul GSH, fierului și transferinei, rezultatele obținute confirmând modificările acestora atât la pacienții cu RET cât și la cei cu RPP, comparativ cu cele ale indivizii lotului martor.

Astfel, activitățile enzimatiche ale SOD și GPx sunt semnificativ crescute în rozacee, reflectând mobilizarea organismului în scopul limitării stresului oxidativ. Creșterea activității GPx este susținută prin creșterea nivelului GSH. Contrar acestui trend, activitatea enzimatică a GST este scăzută la bolnavi, cu o scădere mai amplă în forma RPP, dar totuși fără o diferență semnificativă între cele două forme de rozacee. Această scădere reflectă cel mai probabil un defect genetic al GST la pacienții cu rozacee, un polimorfism al GST evidențiat

de Yazici și colegii în 2006, despre care aceștia sugerează că este implicat în etiopatogeneza rozaceei (40).

Nivelul sideremiei este scăzut, dar ne semnificativ statistic, la pacienții cu rozacee ceea ce indică o perturbare a homeostaziei fierului la acești indivizi. Nivelul transferinei este în mod asemănător, scăzut dar ne semnificativ statistic. Pe de altă parte saturația transferinei este scăzută, modificările acestor parametri susținând prezența stresului oxidativ în rozacee.

Am evidențiat diferențe înalt semnificative statistic între markerii de stres oxidativ studiați în serul pacienților, indiferent de forma de rozacee, spre deosebire de martori. În plus toți cei trei parametri - malondialdehida, grupările carbonil și produșii proteici de oxidare avansată- au avut creștere ușor accentuată în forma papulopustuloasă față de cea din forma eritematotelangiectazică. Aceste observații indică prezența în cantitate crescută a RO în rozacee cu perturbarea structurilor proteinelor și lipidelor. SRO în exces cuplat cu intensificarea activității moleculelor antioxidante susțin ipotezei implicării stresului oxidativ în etiopatogenia rozaceei.

La pacienții cu rozacee valorile markerilor de inflamație sunt superioare celor ale martorilor, cu semnificație statistică doar în forma clinică RPP. Creșterile moderate ale fibrinogenului, VSH, PCR la cei cu RET reflectă inflamația subclinică, dar evidentă din fazele incipiente de boală la examinarea imunohistopatologică. Alături de valorile crescute ale trigliceridelor, colesterolului și glicemiei remarcate la indivizii diagnosticați cu rozaceea papulopustuloasă față de martorii sănătoși, ascensiunea valorilor markerilor de inflamație indică riscul acestor pacienți de a dezvolta patologii sistemice inflamatorii, în primul rând cardiovasculare. Se poate pleda pentru beneficiul instituirii măsurilor preventive pentru astfel de afecțiuni după evaluarea riscului individual de apariție a acestora .

Pe de altă parte la pacienții cu rozacee eritematotelangiectazică atât valorile colesterolului cât și glicemia sunt inferioare celor ale participanților sănătoși la studiu, ceea ce ar putea indica un regim de alimentație sărac în lipide și glucide, probabil modificarea regimului fiind printre primele măsurile adoptate de pacienți în încercarea de ameliorare empirică a eritemului facial, dată fiind concepția populară a asocierii cuperozei cu excesul alimentar.

Pacienții cu rozacee au avut de asemenea activitate enzimatică scăzută a fosfatazei alcaline izoforma intestinală față de martorii sănătoși, cu diferență semnificativă statistic doar pentru cei diagnosticați cu rozacee papulopustuloasă, ceea ce sugerează un deficit al acestei enzime în condiții de inflamație accentuată în rozacee, prin deficit devenit evident în aceste condiții de suprasolicitare funcțională. Corelație statistică negativă semnificativă s-a obținut doar între valorile SOD și cele ale FAI, concluzia fiind că stresul oxidativ din rozacee nu e secundar modificărilor FAI.

În plus prevalența infecției cu *Helicobacter pylori* este asemănătoare la pacienți și martori sănătoși. Deși în literatura de specialitate această infecție este considerată inductoare de stres oxidativ, în studiul de față putem argumenta că stresul oxidativ evidențiat la pacienții cu rozacee nu este secundar infecției cu *H. pylori*.

Rezultatele studiului indică existența unui defect al sistemului de apărare antioxidativă: în timp ce activitățile enzimatică ale SOD și GPx cresc pentru a combate efectele stresului oxidativ, GST scade. Acest lucru permite acumularea proteinelor și lipidelor cu modificări structurale de tip oxidativ.

Astfel, prin evidențierea modificărilor antioxidanților și a markerilor de stres oxidativ la pacienți cu rozacee, indiferent de forma clinică și în lipsa altor condiții/ afecțiuni ce predispun la stres oxidativ la acești indivizi, putem concluziona că stresul oxidativ este implicat în etiopatogenia rozaceei.

Bibliografie

1. Ullah Asmat, Khan Abada, Khan Ismail Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review.. s.l. : Saudi Pharmaceutical Journal, 2016 Sep, Vols. 24, 5, 547–553.
2. Harrison D, Griendling KK, Landmesser U, Hornig B, Drexler H Role of oxidative stress in atherosclerosis.. s.l. : Am J Cardiol, 2003 Feb, Vols. 91(3A):7A-11A.
3. Small DM, Coombes JS, Bennett N, Johnson DW, Gobe GC Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease.. s.l. : Nephrology (Carlton), 2012 May, Vols. 17(4):311-21.
4. Bacchetti T, Campanati A, Ferretti G, Simonetti O, Liberati G, Offidani AM. Oxidative stress and psoriasis: The effect of antitumour necrosis factor- α inhibitor treatment. Br J Dermatol. 2013 and 168(5):984-989.
5. N. Sivaranjani, S. Venkata Rao, G. Rajeev. Role of Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Atopic Dermatitis. s.l. : J Clin Diagn Res, 2013 Dec, Vols. 7(12): 2683–2685. .
6. Emre S, Metin A, Demirseren DD, Akoglu G, Oztekin A, Neselioglu S, Erel O. The association of oxidative stress and disease activity in seborrheic dermatitis. Arch Dermatol Res. 2012 and 304(9):683-687.
7. Bakry OA, Elshazly RM, Shoeib MA, Gooda A. Oxidative stress in alopecia areata: a case-control study. s.l. : Am J Clin Dermatol, 2014 , Vols. 15(1):57-64.
9. Yesilova Y, Ucmak D, Selek S, Dertlioğlu SB, Sula B, Bozkus F, Turan E. Oxidative stress index may play a key role in patients with pemphigus vulgaris. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2013 and 27(4):465-46.
10. Ananya Mandal, MD. [Online] <http://www.news-medical.net/health/Rosacea-History.aspx>.
11. B, Cribier. The red face: art, history and medical representations. 138 Suppl 3:S172-8, s.l. : Ann Dermatol Venereol, 2011 Nov.
12. Chang AL, Raber I, Xu J, Li R, Spitale R, Chen J, Kiefer AK, Tian C, Eriksson NK, Hinds DA, Tung JY. Assessment of the genetic basis of rosacea by genome-wide association study. s.l. : J Invest Dermatol., 2015 Jun, Vols. 135(6):1548-55.
13. Joel T M Bamford, Charles E Gessert, Colleen M Renier, Megan M Jackson, Susan B Laabs, Mark V Dahl, Roy S Rogers. Childhood stye and adult rosacea. s.l. : J Am Acad Dermatol , 2006 Dec, Vols. 5;55(6):951-5.
14. Culp B1, Scheinfeld N. Rosacea: a review. s.l. : P T, 2009 Jan, Vols. 34(1):38-45.
15. Spoenclin J, Voegel JJ, Jick SS, Meier CR A study on the epidemiology of rosacea in the U.K.. s.l. : Br J Dermatol, 2012 Sep, Vols. 167(3):598-605.
16. Berg M, Liden S An epidemiological study of rosacea. s.l. : Acta Dermato-Venereologica, 1989, Vols. 69:419-423.
17. Tan J, Schöfer H, Araviiskaia E, Audibert F, Kerrouche N, Berg M. Prevalence of rosacea in the general population of Germany and Russia - The RISE study. s.l. : 30(3):428-34, 2016 Mar.
18. Schaefer I, Rustenbach SJ, Zimmer L, Augustin M. Prevalence of skin diseases in a cohort of 48,665 employees in Germany. s.l. : Dermatology, 2008, Vols. 2008;217(2):169-72.

19. Martin Steinhoff, Martin Schmelz, Jürgen Schaubert. Facial Erythema of Rosacea – Aetiology, Different Pathophysiologies and Treatment Options. s.l. : Acta Dermatovenereologica, 2016, Vols. Vol 96, Issue 5.
20. Anne Lynn S Chang, Inbar Raber, Jin Xu, Rui Li, Robert Spitale, Julia Chen, Amy K Kiefer, Chao Tian, Nicholas K Eriksson, David A Hinds, and Joyce Y Tung. Assessment of the Genetic Basis of Rosacea by Genome-Wide Association Study. s.l. : J Invest Dermatol, 2015 Jun, Vols. 135(6): 1548–1555.
21. [Online] <https://www.rosacea.org/patients/materials/triggersindex.php>.
22. Jaworek AK1, Wojas-Pelc A, Pastuszczyk M. Aggravating factors of rosacea. s.l. : Przegl Lek, 2008, Vols. 65(4):180-3.
23. Martin Steinhoff, Jörg Buddenkotte, Jerome Aubert et al. Clinical, Cellular, and Molecular Aspects in the Pathophysiology of Rosacea. s.l. : J Invest Dermatol Symp Proc. , 2011 Dec, Vols. 15(1): 2–11.
24. B, Cribier. Rosacea under the microscope: characteristic histological findings. s.l. : J Eur Acad Dermatol Venereol, 2013 Jun, Vols. 27(11):1336-43.
25. Aroni K, Tsagrioni E, Kavantzias N, et al. A study of the pathogenesis of rosacea: how angiogenesis and mast cells may participate in a complex multifactorial process. s.l. : Arch Dermatol Res, 2008, Vols. 300:125–31.
26. Sabine Fimmel, Mohamed Badawy Abdel-Naser, Heinz Kutzner, Albert M. Kligman, Christos C. Zouboulis. New aspects of the pathogenesis of rosacea. 1, s.l. : Drug Discovery Today: Disease Mechanisms, 2008, Vol. 5.
27. Buhl T, Sulk M, Nowak P, Buddenkotte J, McDonald I, Aubert J, Carlavan I, Déret S, Reiniche P, Rivier M, Voegel JJ, Steinhoff M. Molecular and Morphological Characterization of Inflammatory Infiltrate in Rosacea Reveals Activation of Th1/Th17 Pathways. s.l. : J Invest Dermatol, 2015 Sep, Vols. 135(9):2198-208.
28. Vesna Sredoja Tisma, Aleksandra Basta-Juzbasic et al. Oxidative stress and ferritin expression in the skin of patients with rosacea. s.l. : JAAD, 2009 feb, Vols. 60:2(270-276).
29. Goma AH1, Yaar M, Eyada MM, Bhawan J. s Lymphangiogenesis and angiogenesis in non-phymatous rosacea..l. : J Cutan Pathol, 2007 Oct, Vols. 34(10):748-53.
30. Vieira AC, Höfling-Lima AL, Mannis MJ. Ocular rosacea--a review. s.l. : Arq Bras Oftalmol., 2012 oct, Vols. 75(5):363-9.
31. Kenshi Yamasaki1, Anna Di Nardo1, Antonella Bardan et al. Increased serine protease activity and cathelicidin promotes skin inflammation in rosacea. s.l. : Nature Medicine, 2007 aug, Vols. 13, 975 - 980 (2007) .
32. Jang YH, Sim JH, Kang HY, Kim YC, Lee ES. Immunohistochemical expression of matrix metalloproteinases in the granulomatous rosacea compared with the non-granulomatous rosacea. s.l. : J Eur Acad Dermatol Venereol., 2011 May, Vols. 25(5):544-8.
33. Määttä M1, Kari O, Tervahartiala T, Peltonen S, Kari M, Saari M, Sorsa T. Tear fluid levels of MMP-8 are elevated in ocular rosacea--treatment effect of oral doxycycline. s.l. : Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol., 2006 Aug, Vols. 244(8):957-62.

34. Wilkin J, Dahl M, Detmar M, Drake L, Feinstein A, Odom R, et al. Standard classification of rosacea: report of the National Rosacea Society expert committee on the classification and staging of rosacea. s.l. : J Am Acad Dermatol , 2002, Vols. 46:584-7. .
35. Wilkin J, Dahl M et al. Standard grading system for rosacea: Report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea. 6, 2004 Jun, Vol. 50.
36. Two AM, Wu W, Gallo RL, Hata TR. Rosacea: part I. Introduction, categorization, histology, pathogenesis, and risk factors. s.l. : J Am Acad Dermatol, 2015 May, Vols. 72(5):749-58.
37. Banasikowska, Agnieszka Kupiec. Rosacea. [Online]
<http://emedicine.medscape.com/article/1071429-overview>.
38. Cisse M, Maruani A, Bré C, Domart P, Jonville-Bera AP, Machet L. Rosacea fulminans in the early course of a pregnancy by in vitro fertilization with embryo transfer. s.l. : Ann Dermatol Venereol, 2008 Oct, Vols. 135(10):675-8.
39. Aldrich N, Gerstenblith M, Fu P, Tuttle MS, Varma P, Gotow E, Cooper K, Mann M, Popkin DL. Genetic vs Environmental Factors That Correlate With Rosacea: A Cohort-Based Survey of Twins. s.l. : JAMA Dermatol, 2015 Nov, Vols. 151(11):1213-9.
40. Yazici AC, Tamer L, Ikizoglu G, Kaya TI, Api H, Yildirim H, Adiguzel A. GSTM1 and GSTT1 null genotypes as possible heritable factors of rosacea. s.l. : Photodermatol Photoimmunol Photomed., 2006 Aug, Vols. 22(4):208-10.
41. Bhat YJ, Manzoor S, Qayoom S. Steroid-induced rosacea: a clinical study of 200 patients. s.l. : Indian J Dermatol., 2011 Jan, Vols. 56(1):30-2.
42. Egeberg A, Hansen PR, Gislason GH, Thyssen JP. Clustering of autoimmune diseases in patients with rosacea. s.l. : J Am Acad Dermatol., 2016 Apr, Vols. 74(4):667-72.
43. Gedik GK, Karaduman A, Sivri B, Caner B. Has Helicobacter pylori eradication therapy any effect on severity of rosacea symptoms? . s.l. : J Eur Acad Dermatol Venereol, 2005 May, Vols. 19(3):398-9.
44. Szlachcic A, Sliwowski Z, Karczewska E, Bielański W, Pytko-Polonczyk J, Konturek SJ. Helicobacter pylori and its eradication in rosacea. s.l. : J Physiol Pharmacol. , 1999 Dec, Vols. 50(5):777-86.
45. Zekayi Kutlubay, Tuba Zara, Burhan Engin, Server Serdaroğlu, Yalçın Tüzün, Erkan Yılmaz, Bülent Eren. Helicobacter pylori infection and skin disorders. s.l. : Hong Kong Med J , 2014, Vols. 20:317–24.
46. J.K. Triantafillidis, Helen J. Triantafillidi. Extragastric manifestations of Helicobacter pylori infection: a critical reappraisal. s.l. : Annals of gastroenterology , 2006, Vols. 19(2):110-115.
47. Argenziano G, Donnarumma G, Iovene MR, Arnese P, Baldassarre MA, Baroni A. Incidence of anti-Helicobacter pylori and anti-CagA antibodies in rosacea patients. s.l. : Int J Dermatol, 2003 Aug, Vols. 42(8):601-4.
48. A., Szlachcic. The link between Helicobacter pylori infection and rosacea. s.l. : J Eur Acad Dermatol Venereol, 2002 Jul, Vols. 16(4):328-33. .
49. [Online] https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2005/.

50. Utae S, Ozbakir O, Turasan A, Utae C. Helicobacter pylori eradication treatment reduces the severity of rosacea. . s.l. : J Am Acad Dermatol. , 1999 Mar, Vols. 40(3):433-5.
51. Parodi A, Paolino S, Greco A, Drago F, Mansi C, Rebora A, Parodi A, Savarino V. Small intestinal bacterial overgrowth in rosacea: clinical effectiveness of its eradication. s.l. : Clin Gastroenterol Hepatol, 2008 Jul, Vols. 6(7):759-64.
52. Kendall, SN. Remission of rosacea induced by reduction of gut transit time. s.l. : Clinical and Experimental Dermatology, 2004 Jun, Vols. 29(3):297-9.
53. J, Whitehead. s Intestinal alkaline phosphatase: the molecular link between rosacea and gastrointestinal disease?.l. : Med Hypotheses., 2009 Dec, Vols. 73(6):1019-22.
54. JP, Lallès. Intestinal alkaline phosphatase: novel functions and protective effects. s.l. : Nutr Rev. , 2014 Feb, Vols. 72(2):82-94.
55. Ferahbas A, Utas S, Mistik S, Uksal U, Peker D. Rosacea fulminans in pregnancy: case report and review of the literature. s.l. : Am J Clin Dermatol, 2006, Vols. 7(2):141-4.
56. Casas C, Paul C et al. Quantification of Demodex folliculorum by PCR in rosacea and its relationship to skin innate immune activations.l. : Experimental Dermatology, 2012, Vols. Volume 21, Issue 12, pages 906–910.
57. OLIVIER C, ROBERT PD, DAIHUNG D, URBÀ G, CATALIN MP, HYWEL W, Zhao YE, Wu LP, Peng Y, Cheng H. Retrospective Analysis of the Association Between Demodex Infestation and Rosacea. s.l. : Arch Dermatol., 2010, Vols. 146(8):896-902.
58. Chen W, Plewig G. Are Demodex mites principal, conspirator, accomplice, witness or bystander in the cause of rosacea? s.l. : Am J Clin Dermatol., 2015 Apr, Vols. 16(2):67-72.
59. Georgala S, Katsoulis AC, Kylafis GD, Koumantakis-Mathioudaki E, Georgala C, Aroni K.. Increased density of Demodex folliculorum and evidence of delayed hypersensitivity reaction in subjects with papulopustular rosacea. s.l. : JEADV, 2001, Vols. 15(5):441-4.
60. Aimee M. Two, Wiggin Wu, Richard L. Gallo Tissa R. Hata. Rosacea Part I. Introduction, categorization, histology, pathogenesis, and risk factors. s.l. : JAAD, 2015 May, Vols. 72, 5, 749–758
61. McMahon F, Banville N, Bergin DA, Smedman C, Paulie S, Reeves E, Kavanagh K. Activation of Neutrophils via IP3 Pathway Following Exposure to Demodex-Associated Bacterial Proteins. s.l. : Inflammation, 2016 Feb, Vols. 39(1):425-33.
62. O'Reilly N, Menezes N, Kavanagh K. Positive correlation between serum immunoreactivity to Demodex-associated Bacillus proteins and erythematotelangiectatic rosacea. s.l. : Br J Dermatol, 2012 Nov, Vols. 167(5):1032-6.
63. McMahon FW, Gallagher C, O'Reilly N, Clynes M, O'Sullivan F, Kavanagh K. Exposure of a corneal epithelial cell line (hTCEpi) to Demodex-associated Bacillus proteins results in an inflammatory response. s.l. : Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014 Oct, Vols. 55(10):7019-28.
64. O'Reilly N, Gallagher C, Reddy Katikireddy K, Clynes M, O'Sullivan F, Kavanagh K. Demodex-associated Bacillus proteins induce an aberrant wound healing response in a corneal epithelial cell line: possible implications for corneal ulcer formation in ocular rosacea. s.l. : Invest Ophthalmol Vis Sci., 2012 May, Vols. 53(6):3250-9.

65. Yamasaki K, Di Nardo A, Bardan A, Murakami M, Ohtake T, Coda A, Dorschner RA, Bonnart C, Descargues P, Hovnanian A, Morhenn VB, Gallo RL. Increased serine protease activity and cathelicidin promotes skin inflammation in rosacea. *s.l. : Nat Med.*, 2007 Aug, Vols. 13(8):975-80.
66. Steinhoff M, Schaubert J, Leyden JJ. New insights into rosacea pathophysiology: a review of recent findings. *s.l. : J Am Acad Dermatol*, 2013 dec, Vols. 69(6 Suppl 1):S15-26.
67. Schwab VD, Sulk M et al. Neurovascular and Neuroimmune Aspects in the Pathophysiology of Rosacea. *s.l. : J Investig Dermatol Symp Proc*, 2011 Dec, Vols. 15(1): 53–62. .
68. U, Wollina. The response of erythematous rosacea to ondansetron. *s.l. : Br J Dermatol*, 1999 Mar, Vols. 140(3):561-2.
69. A. Steinhoff, A. Grevelhörster, W. E. Schmidt, T. A. Luger, M. Steinhoff. The neuropeptide PACAP upregulates expression and release of cytokines and cell adhesion molecules in human microvascular endothelial cells via VPAC type 1 receptor. *s.l. : Experimental Dermatology*, 2004 Sep, Vols. 13,9, 586.
70. Yamasaki K, Gallo RL. The molecular pathology of rosacea. *s.l. : Journal of dermatological science*, 2009, Vols. 55 , 77–81.
71. Powell, Frank C. Frank C. Powell. *s.l. : Informa Healthcare USA, Inc*, 2009. ISBN-13: 978-1-4200-7258-7.
72. Rosso, James Q. Del, et al., et al. Consensus recommendations from the American Acne & Rosacea Society on the management of rosacea, part 5: a guide on the management of rosacea. *s.l. : Cutis*, 2014Mar, Vols. 93(3):134-8.
73. Barry Halliwell, Matthew Whiteman. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *s.l. : Br J Pharmacol*, 2004 May, Vols. 142(2): 231–255.
74. M, Percival. Antioxidants. *s.l. : CLINICAL NUTRITION INSIGHTS*, Vol. NUT031 1/96 .
75. F. M. F. Alameddine and A. M. Zafari, “Genetic polymorphisms and oxidative stress in heart failure,” *Congestive Heart Failure*, vol. 8, no. 3, pp. 157–172, 2002.
76. D. R. Rosen, T. Siddique, D. Patterson et al., “Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis,” *Nature*, vol. 362, no. 6415, pp. 59–62, 1993.
77. R. de la Torre, A. Casado, E. López-Fernández, D. Carrascosa, V. Ramírez, and J. Sáez, “Overexpression of copper-zinc superoxide dismutase in trisomy 21,” *Experientia*, vol. 52, no. 9, pp. 871–873, 1996.
78. Weydert C, et al. Suppression of the malignant phenotype in human pancreatic cancer cells by the overexpression of manganese superoxide dismutase. *Mol Cancer Ther* 2003.
79. Ough M, et al. Inhibition of cell growth by overexpression of manganese superoxide dismutase (MnSOD) in human pancreatic carcinoma. *Free Radic Res* 2004.
80. Fukai T, Folz RJ, Landmesser U, and Harrison DG. Extracellular superoxide dismutase and cardiovascular disease. *Cardiovasc Res* 55: 239–249, 2002.

81. Li Y, Huang TT, Carlson EJ, Melov S, Ursell PC, Olson JL, Noble LJ, Yoshimura MP, Berger C, Chan PH, Wallace DC, Epstein CJ (Dec 1995). "Dilated cardiomyopathy and neonatal lethality in mutant mice lacking manganese superoxide dismutase". *Nature Genetic*.
82. B. Poljsak, I. Milisav. *Aging, Oxidative Stress and Antioxidants*. "Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants",. 2013.
83. Volodymyr I. Lushchak *Glutathione Homeostasis and Functions: Potential Targets for Medical Interventions*, 2012, Hindawi Publishing Corporation, *Journal of Amino Acids* Volume.
84. Isabella Dalle-Donne, Ranieri Rossi, Roberto Colombo, Daniela Giustarini, and Aldo Milzani *Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease Clinical Chemistry* 52:4 601–623 (2006).
85. Weydert C, et al. Suppression of the malignant phenotype in human pancreatic cancer cells by the overexpression of manganese superoxide dismutase. *Mol Cancer Ther* 2003.
86. Y. Yang, R. Sharma, A. Sharma, S. Awasthi, and Y. C. Awasthi, "Lipid peroxidation and cell cycle signaling: 4-hydroxynonenal, a key molecule in stress mediated signaling," *Acta Biochimica Polonica*, vol. 50, no. 2, pp. 319–336, 2003.
87. D. M. Townsend, V. L. Findlay, and K. D. Tew, "Glutathione S-transferases as regulators of kinase pathways and anticancer drug targets," *Methods in Enzymology*, vol. 401, pp. 287–307, 2005.
88. Christina S. Sander, Jens J. Thiele. *Oxidative Stress. Irritant Dermatitis*. s.l. : Springer Berlin Heidelberg, 2006.
89. Christina S. Sander, Hong Chang, Susann Salzmann, Cornelia S. L. Mu Èller, Swarna Ekanayake-Mudiyanselage, Peter Elsner, Jens J. Thiele, Photoaging is Associated with Protein Oxidation in Human Skin In Vivo, the *Journal of Investigative Dermatology* vol. 1.
90. Hakan Alagozlu, Ahmet Gorgul, Ayse Bilgihan, Candan Tuncer, Selahattin Unal Increased plasma levels of advanced oxidation protein products (AOPP) as a marker for oxidative stress in patients with active ulcerative colitis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 20.
91. Weiss, S. J.. 1989. Tissue destruction by neutrophils. *N. Engl. J. Med.* 320: 365.
92. Körmöcz G.F., Wölfel U.M., Rosenkranz A.R., Hörl W.H., Oberbauer R., Zlabinger G.J. Serum proteins modified by neutrophil-derived oxidants as mediators of neutrophil stimulation. *J. Immunol.* 2001 and 167:451–460.
93. M. Škvařilová, A. Bulava, D. Stejskal, S. Adamovská, J. Barte Increased Level Of Advanced Oxidation Products (Aopp) As A Marker Of Oxidative Stress In Patients With Acute Coronary Syndrome *Biomed. Papers* 149(1), 83–87 2005.
94. Hakan Alagozlu, Ahmet Gorgul, Ayse Bilgihan, Candan Tuncer, Selahattin Unal Increased plasma levels of advanced oxidation protein products (AOPP) as a marker for oxidative stress in patients with active ulcerative colitis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013 Feb;37(1):80-5.
95. Antonio Ayala, Mario F. Muñoz, Sandro Argüelles *Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal* Hindawi Publishing Corporation *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume 2014.

- 96.Cheng J, Vieira A.Oxidative stress disrupts internalization and endocytic trafficking of transferrin in a human malignant keratinocyte line. s.l. : Cell Biochem Biophys, 2006, Vols. 45(2):177-84.
- 97.Millikan, Larry. The Proposed Inflammatory Pathophysiology of Rosacea: Implications for Treatment . [Online] http://www.medscape.com/viewarticle/448505_5.
98. Del Rosso J Q, Thiboutot et al.Consensus Recommendations From the American Acne & Rosacea Society on the Management of Rosacea, Part 3: A Status Report on Systemic Therapies Cutis, 2014 Jan, Vols. 93(1):18-28.
99. Hua TC, Chung PI, Chen YJ et al. s Cardiovascular comorbidities in patients with rosacea: A nationwide case-control study from Taiwan..l. : J Am Acad Dermatol, 2015 Aug, Vols. 73(2):249-54.
- 100.Egeberg A, Hansen PR, Gislason GH, Thyssen JP.Assessment of the risk of cardiovascular disease in patients with rosacea. s.l. : J Am Acad Dermatol, 2016 Aug, Vols. 75(2):336-9.
101. Baz K, Cimen MY, Kokturk A, Aslan G, Ikizoglu G, Demirseren DD, Kanik A, Atik U.Plasma reactive oxygen species activity and antioxidant potential levels in rosacea patients: correlation with seropositivity to Helicobacter pylori. s.l. : Int J Dermatol, 2004 Jul, Vols. 43(7):494-7.

ABREVIERI

AND - acid adenzindifosforic
AOPP - produși proteici de oxidare avansată
ATP - adenzin trifosfatazei
AVC – accident vascular cerebral
BMI – indice de masa corporala
BTNL2 - receptor 2 de tip butirofilin
CAGA - gena A asociată citotoxicității
CagA – proteina codificată de CAGA
CCL2, CXCL8, CCL5 - molecule chemoattractante pentru leucocite
CDNB - 1-cloro-2, 4-dinitrobenzen
CO - grupări carbonil
CMH - complexul major de histocompatibilitate
D. folliculorum – *Demodex folliculorum*
DLQI - *Dermatology Quality of Life Index*
DNPH - 2,4 dinitrofenilhidrazină
DYE – laser vascular ce folosește ca mediu o vopsea organică
DTNB- acid 5,5-ditiobis-2nitrobenzoic
EDTA - acid etilendiaminotetraacetic
FAI – fosfataza alcalină, izoenzima intestinală
FASL – ligand al receptorului Fas al apoptozei
G6P - glucozo 6 fosfatază
GC-MS -gaz cromatografie cuplată cu spectrometria de masă
GPCR - receptor cuplat cu proteina G
GPx - glutation peroxidaza
GSH - glutation forma redusă
GSSG - glutation forma oxidată
GST - glutation S transferaza
GSTM1, GSTT1 - genotipuri nule ale genei ce codifică GST
H. pylori – *Helicobacter pylori*
H₂O - apă
H₂O₂ - hidrogen peroxid
H2R și H3R – receptori de histamină
HLA - antigenul leucocitar uman
HTR3A - receptor pentru serotonină
HO⁻ - radicalul hidroxil
HOCl - acidul hipocloros
ICAM-1 - moleculele de adeziune intercelulară
INrf2 - Inhibitor al Nrf2
IP3 - inositol trifosfat
Keap1 - Kelch-like ECH-associated protein 1

KLK5 - kalikreina 5
LC-MS - lichid cromatografiei cuplată cu spectrometria de masă
LL-37 - principalul peptid derivat din catelicidină
MALT - Mucosa associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma
MDA - malondialdehida
MMP-2 - gelatinaza A
MMP-8 - colagenaza 2
MMP-9 -gelatinaza B
MnCl2 - clorură de mangan
NAD+ - forma oxidată a nicotinamid adenin dinucleotid
NADH - forma redusă a nicotinamid adenin dinucleotid
NADP+ - forma oxidată a nicotinamid adenin dinucleotid fosfat
NADPH - forma redusă a nicotinamid adenin dinucleotid fosfat
NBT - nitroblue tetrazolium
ND-YAG 1064nm –laser ce folosește ca mediu neodimium-doped yttrium aluminum garnet
NF-kB - factor nuclear de transcriptie
NO - monoxidul de azot
Nrf – factor de transcriptie
NRSEC - Societatea Națională a Rozaceei din Statele Unite
O₂ - oxigen
O₂⁻ - anionul superoxid
PACAP - pituitary adenylate cyclase-activating polypeptid
ONOO⁻ - anionul peroxinitrit
SOD - superoxid dismutaza
SRO - specii reactive de oxigen
TCA - acid tricloracetic
TDB - trietanolamin-dietanolamin
TGF - factorul de creștere și transformare
TIMP - inhibitorilor tisulari ai metaloproteinazelor matriceale
TLR - receptori toll-like
TNB - acid 5-tio-2-nitrobenzoic
TNF α - factorul de necroza tumorală α
TRPA – receptorii de canal ankirinici
TRPV - receptori de tip vaniloid ai potențialului receptor tranzitiv
VACA - gena A asociată vacuolizării
VEGF – factor de creștere endotelială
VIP – peptid intestinal vasoactiv
WST8 - sare de tetrazoliu

