

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

Wagner Bertolini

**Perfil Microbiológico e de
Sensibilidade Bacteriana a
Antibióticos em Pacientes
Portadores de Rosácea
Papulopustulosa.**

UFCSPA
Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre

**Porto Alegre
2015**

Wagner Bertolini

**Perfil Microbiológico e de
Sensibilidade Bacteriana a
Antibióticos em Pacientes
Portadores de Rosácea
Papulopustulosa.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Dr. Renan Rangel Bonamigo
Co-orientador: Dr. Rodrigo Pereira Duquia

**Porto Alegre
2015**

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho aos pacientes portadores de rosácea, e um agradecimento especial a todos que participaram do estudo.

Agradeço, em primeiro lugar, ao meu orientador, professor Renan Rangel Bonamigo pela oportunidade de realizar este trabalho, pela sua amizade, pelos seus ensinamentos científicos e éticos transmitidos desde meus tempos de estudante de medicina até hoje. Agradeço também por me servir como modelo de profissional, pesquisador e de pessoa.

Ao professor Rodrigo Pereira Duquia, meu co-orientador, pela amizade, pelos conselhos e pelo incentivo a busca do conhecimento científico.

Aos meus pais, Nilso e Vera Fátima, pela minha educação, por todo amor e carinho e pelo incentivo aos estudos. Ao meu irmão Marcelo, pelo companheirismo e apoio.

À minha namorada Fernanda, pelo amor e companheirismo, apoio, paciência e carinho ao longo do estudo e pela ajuda com a revisão.

Aos meus sogros, Carlos e Luiza e ao meu cunhado Tiago, por me acolherem em sua família, pelo incentivo e carinho.

Ao amigo Osmar Luiz Magalhães de Oliveira, proprietário do laboratório Mont'Serrat, que auxiliou na elaboração do estudo e financiou os exames laboratoriais.

Aos professores, preceptores e residentes do serviço de dermatologia da UFCSPA pelo incentivo e auxílio na realização do trabalho. Um especial agradecimento à professora Magda que sempre incentivou meu lado pesquisador, desde os tempos da residência.

Ao Programa de Pós-graduação em Patologia pela sua ótima organização e formação e um agradecimento especial a secretária Maristela Pasin, pela sua dedicação, empenho e auxílio a todos os alunos do programa, principalmente aos pesquisadores iniciantes como eu.

Esta pesquisa recebeu auxílio de bolsa de Mestrado da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) para o desenvolvimento do estudo.

SUMÁRIO

I. Lista de abreviaturas.....	VI
II. Resumo da dissertação.....	VIII
1. Introdução.....	10
1.1. Epidemiologia.....	11
1.2. Diagnóstico.....	13
1.3. Histologia.....	20
1.4. Patogênese.....	21
1.4.1. Análise do transcriptoma na rosácea.....	22
1.4.2. Peptídeos antimicrobianos : efetores da defesa inata cutânea.....	23
1.4.3. Receptores toll-like.....	27
1.4.4. Catelicidinas como um novo alvo para as abordagens terapêuticas em doenças inflamatórias da pele.....	29
1.4.5. Papel das interações neuroimunes.....	30
1.4.6. Alterações neurovasculares.....	34
1.4.7. Neuromediadores.....	37
1.4.8. Radiação UV crônica.....	38
1.4.9. Papel dos micro-organismos na rosácea.....	39
1.5. Tratamento.....	45
1.5.1. Tratamentos tópicos.....	46
1.5.2. Tratamento sistêmico.....	49
1.6. Referências bibliográficas.....	51

2. Objetivos.....	60
2.1. Principal.....	60
2.2. Específicos.....	60
3. Artigo científico redigido em inglês.....	61
4. Considerações finais.....	66
5. Anexos.....	68
5.1. Anexo 1 - Protocolo de pesquisa.....	68
5.2. Anexo 2 - Termo de consentimento livre e esclarecido.....	70
5.3. Anexo 3 - Parecer do comitê de ética da UFCSPA.....	72
5.4. Anexo 4 – Confirmação de aceitação provisória do artigo.....	75

I. LISTA DE ABREVIATURAS

AARS: do inglês, *American Acne & Rosacea Society*

AMPs: peptídeos antimicrobianos

AzA: ácido azelaico

CAMP: catelicidina humana

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CCL2: do inglês, *cysteine-cysteine chemokine-2*

CXCL8: do inglês, *cysteine-X-cysteine chemokine – 8*

ER: retículo endoplasmático

HP: *Helicobacter pylori*

IL: interleucina

IL-1: interleucina 1

IL-6: interleucina 6

KLK: calicreína

KLK5: calicreína 5

KLK7: calicreína 7

MMP: metaloproteinases da matriz

MMP-2: metaloproteinases da matriz 2

MMP-9: metaloproteinases da matriz 9

NF- κ B-C/EBP α : fator nuclear-kappa-B CCAAT/proteína α potencializadora de ligação

NK: células *natural killer*

NRS: do inglês, *National Rosacea Society*

NRSEC: do inglês, *American National Rosacea Society Expert Committee*

PACAP: do inglês, *pituitary adenylate cyclase activating polypeptide*

PCR: do inglês, *polymerase chain reaction*

PPAR γ : receptores proliferadores-ativados de peroxissoma

PPR: do inglês, *papulopustular rosacea*

RET: rosácea eritematotelangectásica

RF: rosácea fimatosa

RNAr: ácido ribonucleico ribossomal

RNAm: ácido ribonucleico microssomal

RO: rosácea ocular

ROSIE: *Rosacea International Expert*

RPP: rosácea papulopustulosa

TLRs: receptores *tool-like*

TNF- α : fator de necrose tumoral α

TRP: receptor transitório de canais potenciais

TRPA1: receptor transitório de canais potenciais receptor de anquirina 1

TRPV1: receptor transitório de canais potenciais vanilóide 1

UFCSPA: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

UV: ultravioleta

VEGF: fator de crescimento endotelial vascular

II. RESUMO DA DISSERTAÇÃO

Introdução: A rosácea é uma doença crônica de pele que afeta, quase que exclusivamente, a região central da face. A patogênese dessa ainda permanece desconhecida, e pode ser diferente entre seus subtipos. Exposição aos raios ultravioletas, espécies de oxigênios reativos, alterações vasculares, imunidade inata e microorganismos podem ser os responsáveis. Há uma indefinição quanto à importância da presença das bactérias nas lesões da rosácea.

Objetivos: Avaliar a presença de agentes bacterianos nas lesões pustulosas de pacientes com rosácea subtipo 2 (papulopustulosa), em amostra de um centro de referência em atendimento de Dermatologia da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul (Brasil).

Material e Métodos: Realizamos um estudo transversal, coletando secreção de lesões pustulosas e da pele adjacente de todos os pacientes maiores de 18 anos com diagnóstico de rosácea papulopustulosa que consultaram no serviço de dermatologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre entre os anos de 2013 à 2014, para realização de exame bacteriológico e antibiogramas específicos.

Resultados: Os resultados das culturas das pústulas dos 22 pacientes mostraram que apenas dois (9,1%) pacientes tiveram o crescimento de colônias isoladas. Não houve crescimento de colônias isoladas na pele sã de nenhum paciente. Apenas dois pacientes apresentaram crescimento bacteriano nas lesões, um apresentou colônias de *Staphylococcus aureus*, outro colônias de *Staphylococcus epidermidis* ambas sensíveis a múltiplos antibióticos.

Conclusão: o estudo demonstrou uma falta de evidências quanto à importância da presença bacteriana em lesões papulopustulosas da rosácea. Mais estudos precisam ser realizados para avaliarmos o verdadeiro papel das bactérias na patogênese da rosácea. Simples exames bacteriológicos e antibiogramas parecem não ser capazes de auxiliar no manejo destes pacientes. Talvez exames mais sensíveis e específicos, como PCR em tempo real, possam identificar microorganismos capazes de explicar parcialmente a patogênese da rosácea.

Palavras-chave: rosácea, rosácea papulopustulosa, pústula, cultura, antibiograma, bactérias.

1.INTRODUÇÃO

A rosácea é uma doença crônica da pele que afeta, quase que exclusivamente, a região central da face (Plewig e cols., 2000; Wilkin e cols., 2004). Acomete, geralmente, adultos entre os 30-60 anos de idade, mais frequentemente mulheres e pessoas com a pele clara.

Os sinais e sintomas clínicos incluem eritema facial transitório ou persistente, telangectasias, pápulas, pústulas, edema, sensação de picada ou ardência e, às vezes, dor ou prurido (Wilkin e cols., 2002; Powell, 2005).

Muitos fatores desencadeadores (“gatilhos”) estão associados com o início ou agravamento da rosácea, incluindo: radiação ultravioleta (UV), calor, bebidas quentes, comida apimentada, álcool e estresse (Gerber e cols., 2011).

A etiopatogênese da rosácea é incompletamente conhecida e pode ser diferente entre seus subtipos (Crawford e cols., 2004). São citados como elementos etiopatogênicos: exposição aos raios ultravioleta, espécies de oxigênio reativos, alterações vasculares, imunidade inata e micro-organismos podem ser responsáveis (Yamasaki e Gallo, 2009).

Apesar de a rosácea não ter cura estabelecida, um dos tratamentos utilizados para sua forma papulopustulosa são os antimicrobianos que, na maioria das vezes, ocasionam uma boa resposta clínica por parte do paciente, e, ainda que haja evidências por ensaios clínicos randomizados, eles são usados com uma discutível plausibilidade biológica.

Diante das incertezas descritas, surgiu a necessidade de estudar-se o perfil bacteriológico de determinadas lesões de rosácea, verificando a colonização bacteriana e a resistência a antibióticos.

1.1. EPIDEMIOLOGIA

Existem poucos estudos epidemiológicos sobre a prevalência da rosácea; nesses, ela varia de 0,09% a 22% (Spoendlin e cols., 2012).

Berg e Liden (1989) realizaram um estudo na Suécia, em que rastrearam 809 trabalhadores, revelando uma prevalência de 10% de rosácea, sendo que 81% tinham a forma eritematotelangectásica (RET) e 19% a forma papulopustulosa (RPP).

Schaefer e cols. (2008) encontraram uma prevalência de 2,2% de rosácea em 48.665 trabalhadores na Alemanha e Abram e cols. (2010) pesquisaram a prevalência em 348 trabalhadores maiores de 30 anos na Estônia e 78 pacientes foram diagnosticados com a dermatose, determinando uma prevalência de 22%. Entre esses indivíduos, 61 (78%) tinham RET e 17 (22%) tinham RPP (apenas sete apresentavam pústulas, o que representou 41% dos pacientes com RPP e 8,9% de todos os pacientes com rosácea). Apenas um trabalhador homem de 46 anos apresentou rinofima, porém ele apresentava concomitantemente rosácea eritematotelangectásica, sendo enquadrado neste subtipo. Nos pacientes com RET, houve um leve predomínio de pacientes fototipo I e II de Fitzpatrick, o que não foi observado nos com RPP, uma vez que não houve diferença entre os pacientes com fototipos I e II e os de fototipos III e IV. As regiões da face mais afetadas em ordem decrescente foram: região malar, nasal, frontal e mentoniana. Apenas 68% dos pacientes com rosácea notaram as alterações da doença na sua pele e, desses, somente três mulheres e um homem haviam consultado anteriormente um médico devido à rosácea. Ambos os gêneros foram igualmente afetados, entretanto houve um leve predomínio da RPP nos homens, enquanto que as mulheres experimentaram um leve predomínio de episódios de *flushing*.

Embora alguns autores tenham encontrado que ambos os gêneros sejam igualmente acometidos (Kyriakis e cols., 2005; Schaefer e cols., 2008), a rosácea é principalmente conhecida como uma doença de predomínio feminino (Berg e Liden, 1989; Jansen e Plewig, 1997). Uma possível explicação para isso seria o fato de as mulheres procurarem mais frequentemente auxílio devido à rosácea (Feldman e cols., 2001).

Bonamigo e cols. (2008) realizaram dois estudos casos controle, em que a idade dos pacientes variava entre 40 e 50 anos, o sexo feminino era mais afetado entre 66% e 77%, e os fototipos II e III juntos correspondiam a mais de 90% da população afetada. A maioria dos pacientes que procuram auxílio médico apresentava RPP.

Não são encontrados estudos brasileiros de base populacional em rosácea.

1.2. DIAGNÓSTICO

Tradicionalmente, aceita-se que para a realização do diagnóstico de rosácea devam estar presentes eritema facial permanente e história de episódios súbitos e repetidos de vasodilatação (reconhecidos na literatura como *flushing*) (Tony Burns e cols., 2010). São lesões integrantes do quadro clássico, também, as telangiectasias, as lesões inflamatórias (pápulas, nódulos, com ou sem pústulas) e lesões decorrentes da hiperplasia dérmica e hipertrofia sebácea (fimas). Alterações oculares também podem compor o quadro da rosácea, permitindo seu reconhecimento. Eventualmente, quando as características clínicas não permitem a definição diagnóstica, as alterações dérmicas encontradas histopatologicamente costumam ser úteis (Bonamigo e cols., 2008).

Devido ao predomínio do acometimento facial, muitos pacientes consideram que a rosácea comprometa suas relações sociais e profissionais. Em virtude disso, foi criada em 1992 a *National Rosacea Society* (NRS), uma organização mundial sem fins lucrativos que oferece suporte aos pacientes e profissionais, com notícias, informações, distribuição de materiais informativos e estímulo à pesquisa sobre a doença.

Pelo fato de não existir uma classificação padronizada para a rosácea, a NRS, em 2002, montou o *American National Rosacea Society Expert Committee* (NRSEC), para desenvolver um sistema padronizado de classificação que definiria os critérios de classificação e os estágios da rosácea (Wilkin e cols., 2002).

O NRSEC primeiramente identificou as características primárias e secundárias da rosácea, depois delineou os subtipos baseados nos padrões mais frequentes.

As características primárias incluem:

- *flushing* (eritema transitório);
- eritema não transitório;
- pápulas e pústulas;
- telangectasias.

A presença de uma ou mais dessas características, com distribuição centro facial, já seria diagnóstica de rosácea.

As características secundárias incluem:

- sensação de ardência (ou queimação) ou de picada;
- lesões em placas;
- aparência ressecada da pele;
- edema;
- manifestações oculares;
- localização periférica;
- fimas;

As características secundárias frequentemente aparecem com uma ou mais das características primárias, mas podem ocorrer independentemente.

Por causa dessas numerosas e variadas características possíveis, o Comitê concluiu que a avaliação global pode ser mais facilmente realizada e de uma forma mais significativa através da classificação dos subtipos da rosácea, que são:

• **Subtipo 1 - Rosácea eritematotelangectásica (RET):** caracterizada por *flushing* e eritema centrofacial persistente. As telangectasias são comuns, mas não essenciais para o diagnóstico (Figura 1). Edema centrofacial e o relato de sensação de ardência, picada, aspereza e escamações podem ocorrer. A história de *flushing* isolado é comum entre os pacientes (Wilkin e cols., 2002).



Figura 1 – Rosácea eritematotelangectásica (acervo: Dermatologia UFCSPA)

• **Subtipo 2 - Rosácea papulopustulosa (RPP):** inclui eritema persistente com pápulas, pústulas, ou ambas, com distribuição centrofacial. Entretanto, pápulas e pústulas podem ocorrer periorificalmente (perioral, perinasal, periocular) (Figura 2). Pode lembrar acne vulgar, porém os comedões estão ausentes. Sensação de picada e ardência pode ocorrer. Esse subtipo frequentemente está associado ao subtipo 1, incluindo as telangectasias que podem ser obscurecidas pela presença do eritema, pápulas e pústulas, tornando-se visível com o tratamento desses componentes inflamatórios (Wilkin e cols., 2002).



Figura 2 - Rosácea papulopustulosa (acervo: Dermatologia UFCSPA)

• **Subtipo 3 - Rosácea fimatosa (RF):** inclui pele espessada, nodularidades, superfície cutânea irregular e aumentada. Ocorre acometimento principalmente da região nasal, sendo denominado rinofima, mas pode afetar região mentoniana, frontal, malar e auricular (Figura 3). Esse subtipo pode ocorrer em combinação com os dois subtipos anteriores (Wilkin e cols., 2002).

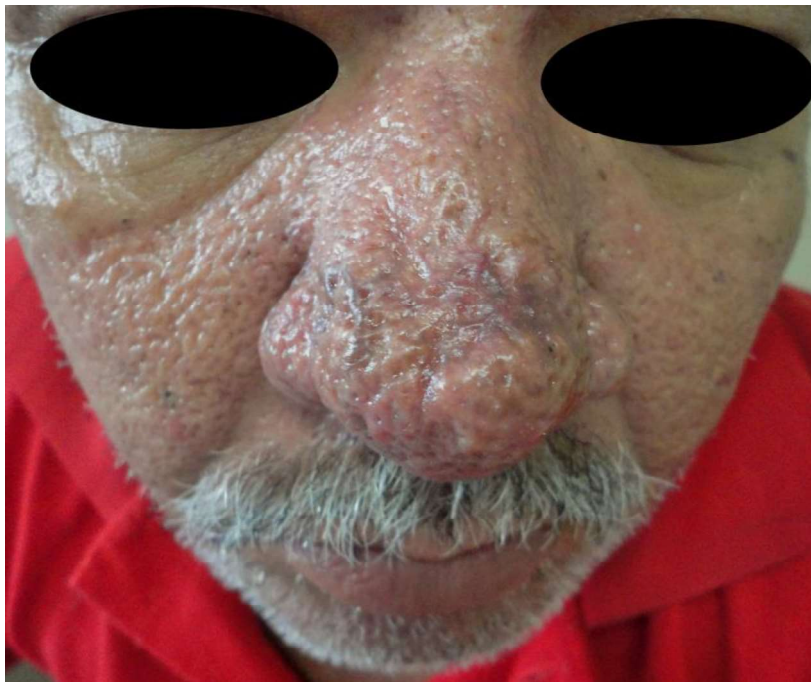


Figura 3 - Rosácea fimatosa (acervo: Dermatologia UFCSPA)

• **Subtipo 4 - Rosácea ocular (RO):** esse diagnóstico deve ser considerado quando há um ou mais dos seguintes sinais ou sintomas: hiperemia conjuntival interpalpebral, sensação de corpo estranho, de ardência e de ressecamento, prurido, sensibilidade à luz, visão borrada, telangectasia da conjuntiva e da borda palpebral. Blefarite, conjuntivite e irregularidade das margens palpebrais também podem ocorrer. Infecção estafilocócica crônica (hordéolo) e calázio, apresentando-se como consequências da disfunção da glândula de Meibomian, são sinais de oftalmopatias associadas à rosácea. Em geral, os sintomas cutâneos estão presentes, porém esses não são requisitos essenciais para o diagnóstico de rosácea ocular, sendo que em aproximadamente 20% dos pacientes os sinais oculares precedem os cutâneos (Wilkin e cols., 2002).

• **Variante: rosácea granulomatosa,** caracterizada por pápulas ou nódulos monomórficos, duros, alaranjados, amarronados ou eritematosos, localizados preferencialmente em regiões malares e áreas periorificiais e que podem levar a cicatrizes. São lesões menos inflamatórias que as do subtipo 2, situando-se, na maioria das vezes, em base cutânea normal. Não são necessários outros sinais de rosácea para o diagnóstico dessa variante. Devido às diferenças fisiopatológicas, as seguintes condições foram excluídas como variantes da rosácea: rosácea *fulminans* (pioderma facial), erupção acneiforme induzida por esteroide e dermatite perioral (Wilkin e cols., 2002).

Para reforçar a utilidade desta nova classificação, tanto para clínicos quanto para pesquisadores, o mesmo Comitê, em 2004, reuniu-se novamente e elaborou um sistema padrão para a avaliação das graduações da gravidade da rosácea, criando um fluxograma padrão de diagnóstico (ficha de avaliação clínica da rosácea) (Wilkin e cols., 2004).

As características primárias e a maioria das secundárias podem ser graduadas como ausentes, leves, moderadas ou graves. Algumas características secundárias podem ser graduadas simplesmente como ausente ou presente.

Uma tabela de graduação também foi proposta e é exposta no quadro abaixo.

Quadro 1. Graduação da rosácea papulopustulosa. Modificada de Wilkin *et al.* (Wilkin e cols., 2004).

Severidade	Pápulas/Pústulas	Placas
Leve	Poucas	Nenhuma
Moderado	Várias ou Muitas	Nenhuma
Grave	Muitas e/ou Extensas	Nenhuma/Presente

A classificação da graduação permanece com certo caráter subjetivo em alguns quesitos, pois não há a definição do número de pápulas/pústulas dentro das graduações propostas (poucas, várias, muitas, extensas). Nos trabalhos que utilizam essa classificação, normalmente os autores fazem sua própria graduação da RPP baseada em um número de pápulas/pústulas predefinido por eles.

Depois da publicação dessa classificação, essa passou a ser a mais utilizada nos principais estudos sobre rosácea, pois é considerada a mais adequada e fidedigna, apesar das limitações.

1.3. HISTOLOGIA

Os achados histológicos da rosácea incluem: vasos sanguíneos e linfáticos dilatados levando ao eritema e edema; infiltrado perivascular constituído de aumento de células T, macrófagos e mastócitos; e frequentemente, mas não exclusivamente, elastose solar, edema e vasos tortuosos e dilatados. A forma papulopustulosa pode apresentar também um denso infiltrado perifolicular constituído de neutrófilos e macrófagos (Powell, 2004; Cribier, 2011).

Bonamigo e cols. (2008), realizaram um estudo caso-controle em que foram alocados 34 casos de rosácea e 29 controles com outras dermatoses da face, todos submetidos a biópsias de pele da face e analisados histopatologicamente. A histopatologia dos pacientes com rosácea demonstrou processo inflamatório linfocítico dérmico, neoformação vascular e dilatações vasculares formando verdadeiros “microaneurismas”. Além disso, desestruturação do arcabouço dérmico e elastose foram achados frequentes. A presença do ácaro *Demodex folliculorum*, com processo inflamatório circunjacente foi verificada em 12 pacientes com rosácea (35,3% da amostra) e em dois pacientes controles (6,9%). A diferença encontrada entre casos e controles, para a presença do *D folliculorum*, foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

1.4. PATOGÊNESE

As características patogênicas da rosácea são baseadas no tripé: dano ao arcabouço dérmico, vasculopatia e processo inflamatório (Wilkin, 1994).

Torna-se cada vez mais claro que a fisiopatogenia da rosácea é muito complexa, envolvendo uma grande variedade de tipos de células e moléculas da pele. Estudos recentes sugerem que a rosácea, inicialmente, ocorre em indivíduos quando as respostas imunes inatas inapropriadas a estímulos ambientais conduzem à inflamação e a anomalias vasculares.

Recentemente, surgiu uma teoria integrada sobre a fisiopatogênese da rosácea, baseada em resultados de vários estudos. Esses analisaram o transcriptoma na rosácea, os peptídeos antimicrobianos (AMPs), os receptores *toll-like* (TLRs), as catelicidinas, as interações neuroimunes, as alterações neurovasculares, os neuromediadores e a radiação UV (Gerber e cols., 2011; Steinhoff e cols., 2011; Steinhoff e cols., 2013). A figura 4 procura demonstrar esquematicamente esta teoria (Steinhoff e cols., 2011).

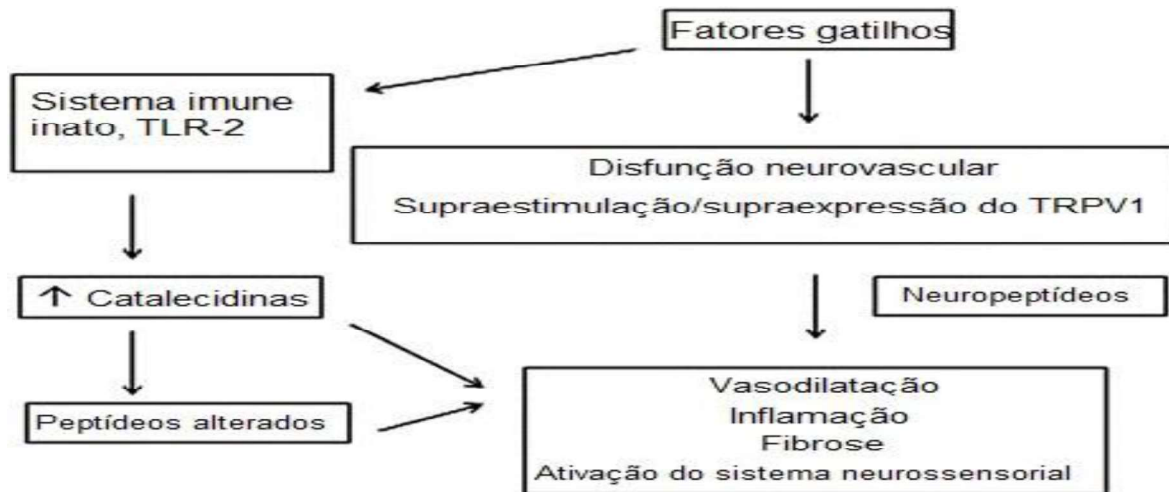


Figura 4. Esquema proposto por Steinhoff e cols.: interações entre as características clínicas, imunológicas, neurovasculares e moleculares da rosácea. *TLR*: receptores *tool-like*; *TRPV1*: receptor transitório de canais potenciais vanilóide 1. Adaptado de Steinhoff e cols., 2011.

Os micro-organismos também desempenham um papel na, ainda obscura, patogênese da rosácea (Lazaridou e cols., 2011). A seguir, todas essas teorias serão descritas mais detalhadamente.

1.4.1. ANÁLISE DO TRANSCRIPTOMA NA ROSÁCEA

Dados epidemiológicos comparando prevalências de doenças e fenótipos de pele em diferentes regiões sugerem que a rosácea tenha um componente genético, porém um ou mais “gene(s) da rosácea” ainda precisam ser identificados (Abram e cols., 2010; Steinhoff e cols., 2011).

Uma recente análise do perfil do transcriptoma dos pacientes com RET, RPP e RF verificou a existência de diferentes perfis de genes para cada subtipo

da doença, embora alguns genes estejam sobrepostos (Steinhoff e cols., 2011). É necessária uma análise mais detalhada das diferentes fases da rosácea para determinar se os subtipos definidos são estágios relacionados a uma piora contínua de uma única doença com vários mecanismos fisiopatológicos, ou se as diferentes manifestações da rosácea representam uma coleção de diversos processos distintos e possivelmente não conectados com uma característica fenotípica comum (síndrome) (Wilkin e cols., 2002; Steinhoff e Bergstresser, 2011; Steinhoff e cols., 2011).

A imunohistoquímica combinada com análises morfométricas da RET, RPP e RF indica que células T *helper* CD4+ tipo 1 (Th1), macrófagos e mastócitos são as células imunes ativadas predominantes na rosácea. Já nos estágios iniciais (ex.: RET), a rosácea apresenta-se como uma doença de pele inflamatória mediada por células Th1 com recrutamento de macrófagos e mastócitos, mas sem aumento no número de células de Langerhans, eosinófilos ou células *natural killer* (NK). Aquelas células também representam as células predominantes presentes nas pápulas da RPP. Neste subtipo, o RNA mensageiro da interleucina (IL)-8 está drasticamente suprarregulado, resultando no recrutamento de neutrófilos, clinicamente observado como pústulas. Células B são ativadas na RF e algumas vezes na RPP, mas o gatilho para esta ativação permanece desconhecido (Gerber e cols., 2011; Schwab e cols., 2011; Steinhoff e cols., 2011). Entretanto, esse resultado indica que o sistema imune adaptativo, representado pelas células Th1 (numa fase muito inicial em todos os subtipos), junto com as células B ou plasmócitos (presentes apenas na RF e ocasionalmente RPP), também desempenha um significativo papel na fisiopatogenia da rosácea. Uma questão instigante para futuras pesquisas é identificar como o sistema adaptativo e o sistema imune inato estão conectados na patogênese da rosácea.

1.4.2. PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS: EFETORES DA DEFESA INATA CUTÂNEA

Para formar uma barreira eficiente contra o meio externo, o tegumento cutâneo-mucoso possui múltiplos mecanismos de defesa físicos, bioquímicos e celulares. O sistema imune inato desempenha um papel crucial, uma vez que os queratinócitos possuem sensores que são capazes de comunicar-se entre si contra sinais de perigo (Steinhoff e cols., 2013).

A interação entre os queratinócitos pode desencadear a ativação imune e/ou cascatas pró-inflamatórias, provendo uma resposta imune adequada e coordenada. Peptídeos antimicrobianos estão entre os fatores de defesa solúveis que são secretados principalmente pelos queratinócitos na pele. Inicialmente, os AMPs foram identificados como antibióticos endógenos devido ao seu potencial de matar vários agentes patogênicos como bactérias gram-positivas e gram-negativas, vírus e fungos (Steinhoff e cols., 2013).

Além dos queratinócitos, outras células presentes na pele produzem e secretam AMPs, como células glandulares écrinas, mastócitos, sebócitos, neutrófilos, células NK. Notavelmente, a produção de AMPs na pele é um mecanismo de defesa dinâmico: embora alguns AMPs sejam expressos constitutivamente na pele, a produção de outros é altamente aumentada em situações de “perigo”, como lesões ou infecções cutâneas (Schauber e Gallo, 2007).

Os grupos de AMPs na pele importantes e bem estudados são da família das defensinas e das catelicidinas. Embora existam vários genes codificados de defensinas (ex.: α - e β -defensinas), apenas um único gene de catelicidina foi identificado no homem, designado peptídeo antimicrobiano de catelicidina humana (CAMP) (Larrick e cols., 1995).

Como muitos genes AMP, o CAMP codifica um pró-peptídeo que é composto de um domínio de catelina N-terminal e um peptídeo C-terminal com atividade antimicrobiana. A primeira catelicidina ativa identificada foi a LL-37, um peptídeo 37-aminoácido longo com ampla atividade antimicrobiana. Essa forma uma α -hélice em solução aquosa, a qual permite que o peptídeo possa romper tanto membranas bacterianas como envelopes virais (Braff e Gallo, 2006). Na superfície da pele, peptídeos de catelicidinas ativas, tais como a LL-37, são clivados a partir do precursor inativado pelas proteases séricas da família das calicreínas (KLK) (particularmente a KLK5 - também conhecida como enzima trípica do estrato córneo - e KLK7 - também conhecida como enzima quimiotriptica do estrato córneo) (Yamasaki e cols., 2006). Além da LL-37, alguns outros produtos de clivagem da pró-proteína, assim como fragmentos da LL-37, podem também exercer funções imunes, mas podem diferir nas suas capacidades de ativação antimicrobiana e imune (Murakami e cols., 2004).

Além da atividade antimicrobiana, a LL-37 tem funções adicionais na ativação e no controle das respostas imunes. Essa aumenta a liberação de citocinas e de quimiocinas pelas células locais, leucócitos, mastócitos e queratinócitos, além dos seus efeitos quimiotáticos sobre um grande número de células imunes (Schauber e Gallo, 2007). Em cooperação com essas citocinas, a LL-37 aumenta a resposta imune inata por múltiplas vias. No topo de todos esses efeitos, a LL-37 aumenta a proliferação das células endoteliais e parece induzir uma angiogênese funcionalmente importante. Esses atributos complementares à função antimicrobiana levaram à percepção da LL-37 não apenas como um antimicrobiano, mas como peptídeo “alarme”.

Por conseguinte, a disfunção da função alarme da catelicidina LL-37 poderia desempenhar um papel na patogênese de doenças inflamatórias da pele, inclusive da rosácea (Figura 5), na mesma medida como a atividade

antimicrobiana diminuída. De fato, a transcrição do RNA mensageiro da catelicidina e a expressão da proteína estão fortemente aumentados na pele com lesões de rosácea comparada com a pele de indivíduos saudáveis, apesar da ausência de um gatilho infeccioso óbvio na rosácea (Yamasaki e cols., 2007; Schwab e cols., 2011).

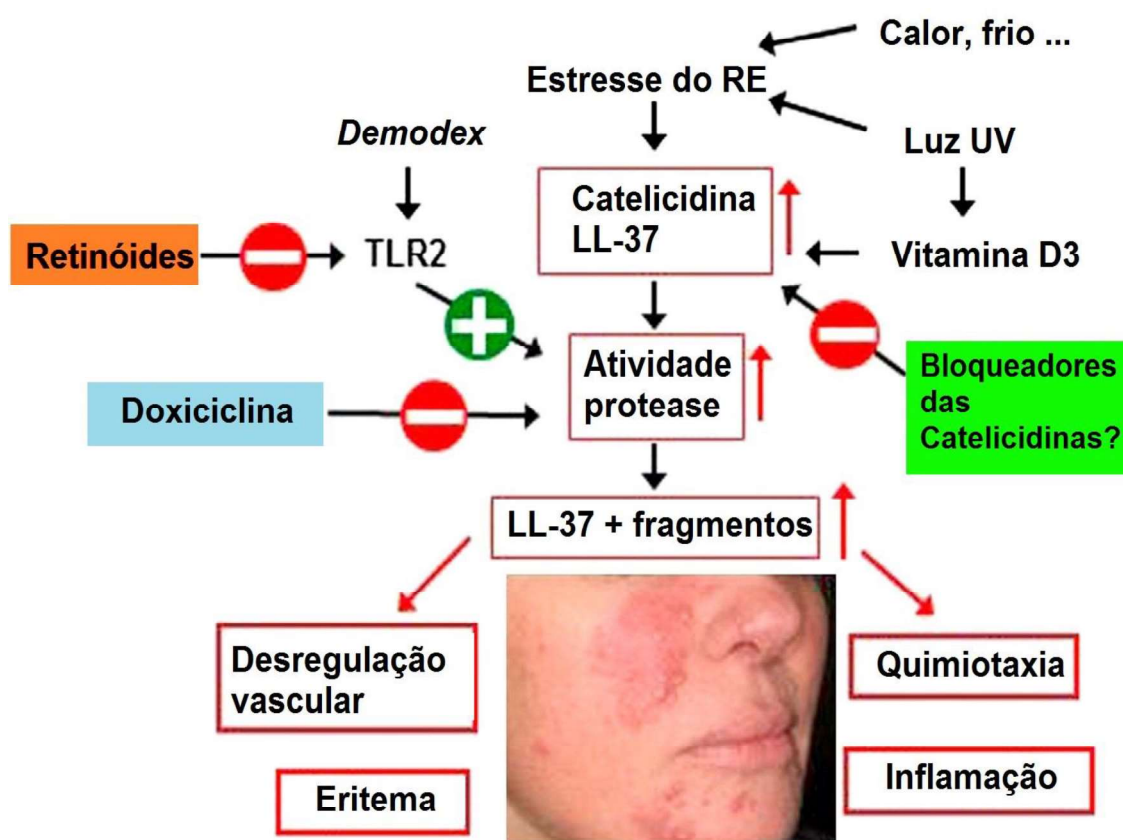


Figura 5. Esquema proposto por Steinhoff e cols.: papel dos peptídeos antimicrobianos catelicidinas na patogênese da rosácea. *RE*, retículo endoplasmático; *TLR*, receptor toll-like; *UV*, ultravioleta. Adaptado de Steinhoff e cols., 2011.

Confirmando um papel patogênico das catelicidinas na rosácea, a injeção desses fragmentos de peptídeos, encontrados na pele de pacientes com a

doença, na pele de camundongos levou a uma dermatite “tipo rosácea”. Em contraste, o aumento isolado da atividade da protease na catelecidina nocauteou os camundongos e não causou inflamação dérmica (Yamasaki e cols., 2007).

No entanto, os mecanismos subjacentes ao aumento da produção de catelicidina e a atividade aumentada da protease na pele de pacientes com rosácea ainda não são completamente compreendidos. Ambos parecem ser regulados por diferentes vias de sinalização como cascatas ativadas por citocinas, retinóides e vitamina D, as quais desempenham papéis importantes. No entanto, como a ativação das catelicidinas e do sistema imune inato resultam no eritema transitório e persistente em pacientes com RET é uma questão que precisa ser explorada no futuro (Morizane e cols., 2010).

A expressão da catelicidina LL-37 em queratinócitos humanos é fortemente induzida pela ativação da via da vitamina D. Isso poderia explicar algumas dúvidas: por que a rosácea ocorre principalmente na face? Como a exposição à luz UV provoca ativação da vitamina D em queratinócitos e a subsequente expressão da catelicidina (Schauber e Gallo, 2008)?

Recentemente, foi identificada uma segunda via (independente da vitamina D), desencadeadora da indução da síntese de catelicidina: nos queratinócitos, a expressão da catelicidina aumenta após a exposição a vários estímulos externos (por exemplo, infecção, ferimentos, radiação UV e permeabilidade ao rompimento da barreira cutânea), que também provoca estresse do retículo endoplasmático (RE). Na verdade, o estresse do RE aumenta a expressão da CAMP via NF-kB-C/EBP α (fator nuclear-kappa-B CCAAT/proteína α potencializadora de ligação), independente da ativação do receptor de vitamina D, o que demonstra um novo papel do estresse do RE em estimular a imunidade inata. Isso novamente poderia explicar porque pacientes com rosácea frequentemente relatam gatilhos inespecíficos da inflamação da pele (ex.: calor,

frio, UVB), que nesse cenário poderia ter suas atividades pró-inflamatórias mediadas pelo estresse do RE e pela influência das catelicidinas (Park e cols., 2011).

Na análise do transcriptoma, as catelicidinas estavam suprarreguladas em todos os subtipos de rosácea, embora modestamente (cerca de 2,5 vezes). Assim, o papel das catelicidinas, como um fator agravante da rosácea, ainda necessita de mais esclarecimentos (Schwab e cols., 2011; Yamasaki e Gallo, 2011).

1.4.3. RECEPTORES *TOLL-LIKE*

Mas por que a atividade da protease cutânea está elevada na pele lesionada da rosácea? Como mencionado anteriormente, as células residentes na pele tais como os queratinócitos expressam receptores que detectam padrões moleculares associados a agentes patogênicos.

Os TLRs são uma família de sensores moleculares padrão associados a patógenos desencadeantes de outras respostas imunes. Como exemplo, os ligantes dos TLR2 são moléculas estruturais microbianas tais como fragmentos da parede celular e também quitina. Na pele com lesões de pacientes com rosácea, os queratinócitos expressam níveis elevados de TLR2. Além disso, a ativação de TLR2 em queratinócitos leva a uma maior expressão de proteases KLK e à atividade da protease mais elevada (Yamasaki e cols., 2011).

E qual é o gatilho para os TLR2 na rosácea? A maioria dos autores estabelece ligações diretas e indiretas de suprarregulação dos TLR2 e aumento da sensibilidade do receptor para a associação significativa entre o desenvolvimento da rosácea e densidade de infestação do *Demodex folliculorum* (Meyer-Hoffert e Schroder, 2011). Possivelmente, a quitina liberada desses

ácaros pode servir de gatilho para os TLR2 nos queratinócitos e relacionar o *Demodex* com o aumento da atividade da protease e a inflamação induzida por catelicidina na rosácea. Além disso, Lacey e cols. (2007) isolaram o *Bacillus oleronius* a partir do *D folliculorum* e determinaram os antígenos que reagiram com os soros de pacientes com rosácea, mas não com o controle (indivíduos saudáveis). Eles também identificaram proteínas de choque térmico e uma lipoproteína nas moléculas antigênicas do *B oleronius*. Pelo fato das proteínas de choque térmico e das lipoproteínas serem estimuladoras conhecidas de TLR2, essa observação pode ser uma explicação adicional para estimulação da imunidade inata mediada por TLR2.

A suprarregulação das KLKs pode ser induzida por lesão, estímulos físicos e agentes microbianos em quantidades elevadas, indicando que as KLKs, as proteases, e os receptores ativados por proteases são um sistema adicional do sistema imune inato (Yamasaki e cols., 2007; Schwab e cols., 2011; Steinhoff e cols., 2011). A interação entre os sistemas de antimicrobianos e proteases gerados pelas células imunes e residentes da pele na fisiopatologia da rosácea precisa ser mais estudada.

Em conjunto, essas observações potencialmente identificam uma complexa cascata pró-inflamatória envolvendo *Demodex* ou outros agentes microbianos, TLRs, catelicidina, e possivelmente outros AMPs, bem como proteases e inibidores da protease na patogênese da rosácea. Curiosamente, vários desses mecanismos poderão também ser explorados para novas terapias (Steinhoff e cols., 2013).

1.4.4. CATELICIDINAS COMO UM NOVO ALVO PARA AS ABORDAGENS TERAPÊUTICAS EM DOENÇAS INFLAMATÓRIAS DA PELE

Os dados crescentes sobre o papel das catelicidinas na rosácea levaram a ideia de que para atenuar a inflamação cutânea é importante considerar a expressão dos AMPs. A restauração da atividade antimicrobiana ou o balanceamento das atividades "alarme" dos AMPs poderiam ser novos objetivos de tratamentos tópicos ou sistêmicos para esta doença inflamatória da pele. Várias abordagens são imagináveis. Como um exemplo, a quitina liberada dos ácaros *Demodex* possivelmente desencadeia a ativação do TLR2 e o subsequente aumento da atividade da protease na pele de pacientes com rosácea. Assim, a diminuição da carga desses ácaros sobre a pele ou o bloqueio do TLR2 pode diminuir a atividade da protease, a disfunção da catelicidina, e a inflamação cutânea. Com isso, a inibição do *Demodex* tem sido sugerida para o tratamento da rosácea, e a diminuição da densidade do ácaro está associada com inflamação reduzida em estudos clínicos (Lazaridou e cols., 2011). Além disso, os retinóides, os quais podem ser utilizados no tratamento da rosácea moderada a grave, bloqueiam a atividade do TLR2 e podem mediar os seus efeitos através desse mecanismo (Liu e cols., 2005).

O aumento da atividade da protease é central para os efeitos pró-inflamatórios dos peptídeos catelicidinas disfuncionais na rosácea (Yamasaki e cols., 2007). Assim, as terapias tópicas ou sistêmicas inibindo a atividade patológica da protease poderiam exercer efeitos anti-inflamatórios na rosácea. De fato, algumas terapias estabelecidas e clinicamente eficazes provavelmente exercem o seu efeito benéfico através desse mecanismo. Como um exemplo, as tetraciclinas, como a doxiciclina, podem inibir proteases e atenuar a inflamação cutânea na rosácea (Del Rosso e cols., 2007; van Zuuren e cols., 2007;

Schauber e Gallo, 2008). Estes efeitos anti-inflamatórios são independentes do efeito antimicrobiano da doxiciclina e as doses necessárias para o efeito clínico na rosácea são provavelmente menores do que as necessárias para o tratamento de infecções.

Outra forma de interferir com a cascata pró-inflamatória poderia ser bloqueando o aumento da produção de catelicidina na pele lesionada. Como mencionado anteriormente, a vitamina D controla a expressão de catelicidina e a ativação do gatilho-UVB, a partir de moléculas precursoras. Assim, a orientação dos pacientes com rosácea para evitar a exposição à luz solar pode encontrar sua base científica nessas observações (Steinhoff e cols., 2013).

1.4.5. PAPEL DAS INTERAÇÕES NEUROIMUNES

Os fatores desencadeantes da rosácea, tais como a exposição à luz solar (radiação UV), calor ou frio, álcool, alimentos picantes, ou exercícios podem ativar as terminações nervosas sensoriais periféricas, o que pode estar implicado na fisiopatologia da rosácea (Figura 6) (Steinhoff e Bergstresser, 2011; Steinhoff e cols., 2011).

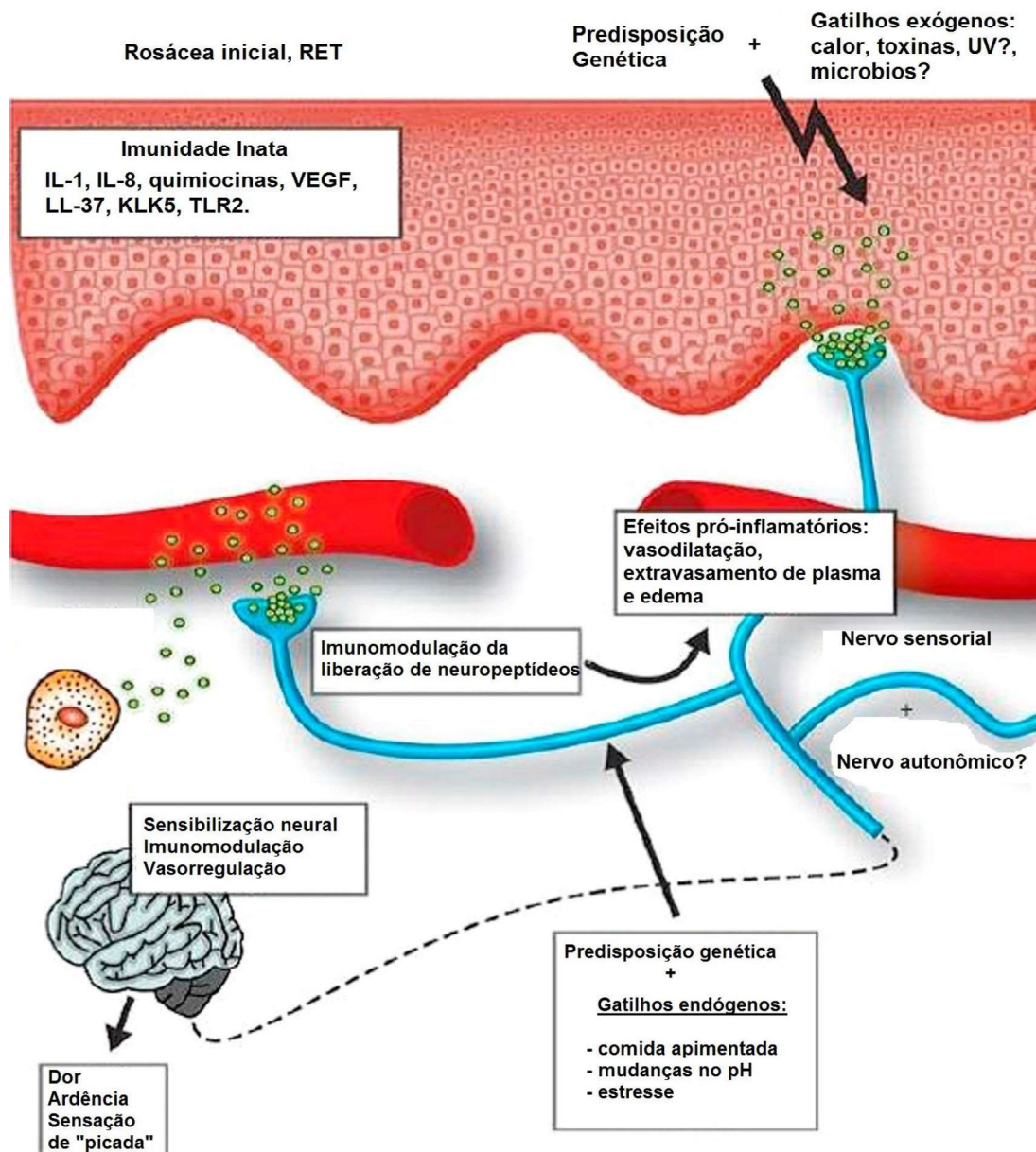


Figura 6. Esquema proposto por Steinhoff *et al*: interações entre os fatores gatilhos, nervos sensoriais, histopatologia e os sintomas da rosácea (Steinhoff e cols., 2011). *IL*: Interleukin; *UV*: ultravioleta.

Além da ativação dos nervos cutâneos altamente sensíveis, o acometimento do sistema imune inato e da barreira epidérmica podem conduzir a uma "hipersensibilidade da pele" resultando em um eritema transitório e, mais tarde, persistente, assim como a dor ou ardor. Os neuromediadores indutores dessas respostas neuroimunes podem não apenas serem liberados por terminações nervosas sensoriais, mas também por células da pele, tais como

queratinócitos, células endoteliais ativadas, ou fibroblastos. Além disso, os nervos sensoriais também expressam TLRs ou receptores ativados por protease, construindo uma ligação entre o sistema imune inato e o sistema nervoso. A indução da inflamação neurogênica pode levar a liberação de citocinas pró-inflamatórias ou quimiocinas, resultando em vasodilatação, edema e inflamação com eritema tanto transitório como persistente, ardor, sensação de picadas, e até mesmo fibrose através da ativação de mastócitos (Powell, 2005; Tore e Tuncel, 2009). No entanto, a relação exata entre o sistema nervoso cutâneo e o sistema imune inato na rosácea ainda permanece indefinido, mas parece que os dois sistemas estão associados com características clínicas que resultam de um ou mais gatilhos da doença (Steinhoff e cols., 2011).

A recente descoberta de uma nova classe de canais de cátions não seletivos, o receptor transitório de canais potenciais (TRPs), aumentou a nossa compreensão de como as terminações nervosas sensoriais são ativadas para liberar neuropeptídeos vasoativos, para controlar a dor ou a inflamação, e pode, assim, ter implicações significativas para fisiopatologia da rosácea. A família TRP é atualmente composta por 28 canais com 7 subfamílias. Esses receptores são amplamente expressos em tecidos neuronais e não neuronais, incluindo queratinócitos e células endoteliais (Aubdool e Brain, 2011). Estudos recentes têm focado no receptor vanilóide TRP 1 (TRPV1), também conhecido como receptor de capsaicina, e no TRP receptor de anquirina 1 (TRPA1), envolvidos na indução da dor e da inflamação (Nilius e cols., 2007). Eles podem ser ativados pelo calor, etanol, comida picante (TRPV1), frio, formalina, ou outros produtos químicos (TRPA1), todos fatores desencadeantes da rosácea. A ativação de TRPV1 e TRPA1 provoca a liberação da substância P e do peptídeo relacionado com o gene da calcitonina, mediadores importantes da inflamação e dor neurogênica. Notavelmente, a pele com rosácea parece mostrar um limiar de

tolerância significativamente mais baixo para temperatura e produtos químicos, tornando-se uma pele muito mais sensível que o normal (Guzman-Sanchez e cols., 2007).

A liberação do peptídeo relacionado com o gene da calcitonina pode ser particularmente importante, tendo em vista o seu efeito potente de dilatação microvascular nas arteríolas, enquanto a substância P é crucial para a produção do edema, via ativação do receptor de NK1 em vênulas pós-capilares (Seeliger e cols., 2010). Ambos induzem inflamação neurogênica. Os pacientes com rosácea frequentemente relatam que seu eritema facial é intensificado por vários temperos. Curiosamente, ambos agonistas exógenos para TRPV1 e TRPA1 são químicos derivados de vegetais, temperos ou cosméticos (por exemplo capsaicina da pimenta, cinamaldeído da canela, formalina de vários cosméticos) (Nilius e cols., 2007; Yamasaki e cols., 2007).

O conceito que emerge a partir destes estudos é o que segue: pacientes com rosácea podem ter uma predisposição genética ou ganho de função de uma mutação em um receptor que está envolvido na regulação neurovascular, sensível aos fatores desencadeantes da rosácea (ou superexpressão ou superestimulação dos TRPs), o que resulta na liberação de neuropeptídeos (caracterizado por *flushing* e edema), seguido de um eritema transitório até um persistente, e recrutamento de células inflamatórias para o local da inflamação. Como essa desregulação neurovascular está relacionada com o sistema imune inato e adaptativo, no entanto, ainda precisa ser pesquisado. O fato de a rosácea se apresentar clinicamente como *flushing* transitório indica o envolvimento, ou até mesmo o papel central do sistema neurovascular na fase inicial da doença (Steinhoff e cols., 2013).

Proteases epidérmicas e seus inibidores desempenham papéis fundamentais na homeostase da pele normal. As proteases matriptase e

caspase-14 são enzimas fundamentais para o processamento da filagrina, a qual possui funções de barreira na pele intacta, e as proteases KLK5 e KLK7 mantêm os processos fisiológicos de descamação. Na rosácea, níveis aumentados de KLK5 são encontrados como consequência de um aumento de TLR2 e da sua ativação. O aumento da transformação KLK-mediada dos peptídeos catelicidinas pode levar ao aumento dos níveis de peptídeos e seus fragmentos, que podem induzir a vasodilatação e promover a quimiotaxia dos leucócitos. Além disso, o aumento das quantidades de proteases séricas pode resultar na ativação da via de suprarregulação do TRP e/ou ativação de receptores protease-ativados. Adicionalmente, o aumento da atividade das proteases séricas na rosácea também pode ser causado por sua inibição prejudicada. Em geral, as proteases podem controlar a função imune e induzir vasodilatação, inflamação, dor ou prurido. Assim, estudos futuros terão de dissecar quais mecanismos fisiopatológicos das proteases na rosácea derivam de um efeito direto sobre os nervos, vasos e células do sistema imunológico, e quais derivam da interação com TLRs, AMPs, ou TRPs, respectivamente (Steinhoff e cols., 2013).

1.4.6. ALTERAÇÕES NEUROVASCULARES

A disfunção neurovascular é um outro aspecto das interações neurais e alterações vasculares cutâneas, ativada por fatores desencadeantes, que se pensa ter um papel chave na fisiopatogenia da rosácea (Schwab e cols., 2011).

É necessário diferenciar entre os papéis do sistema venoso e do linfático. O aumento da resposta vascular e do eritema facial persistente na rosácea é de particular interesse devido à crescente evidência de que os vasos sanguíneos e, possivelmente, os vasos linfáticos têm um papel importante no controle das

doenças inflamatórias agudas e crônicas (Huggenberger e Detmar, 2011). Na pele inflamada, vasos se remodelam ou alteram seu fenótipo tornando-se redes aumentadas e hiperpermeáveis com aumento do fluxo sanguíneo e influxo facilitado de células inflamatórias de sítios de inflamação crônica. As células endoteliais dos vasos sanguíneos ativados expressam uma grande variedade de diferentes receptores, moléculas de adesão, e citocinas, que permitem a migração de leucócitos na pele para os principais locais de inflamação (Steinhoff e cols., 2013).

Na rosácea, a ativação de arteríolas pré-capilares resulta em vasodilatação (*flushing*, eritema), enquanto que ativação de vênulas pós-capilares leva à fuga de proteínas (edema) e o recrutamento de leucócitos através da suprarregulação das selectinas e de moléculas de adesão celular. Em contraste, após estimulação por fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF) ou estímulos externos (ex.: UV), os vasos sanguíneos podem crescer em número (angiogênese). O papel da angiogênese na rosácea é uma questão de debate considerável; embora alguns grupos argumentem que os seus dados apoiem um papel significativo da angiogênese na fisiopatogênese da rosácea, os relatórios mais recentes enfatizam que o aumento no tecido vascular em amostras de pacientes reflete primariamente vasodilatação (Gomaa e cols., 2007; Schwab e cols., 2011). Por exemplo, níveis aumentados do fator-A de crescimento endotelial vascular (VEGF-A), bem como o aumento da angiogênese e/ou linfangiogênese têm sido relatados na pele lesionada da rosácea (Gomaa e cols., 2007; Huggenberger e Detmar, 2011). Outros encontraram aumento de tamanho/volume dos vasos sanguíneos e linfáticos, enquanto a angiogênese dos vasos sanguíneos foi exclusiva da RF. Deste modo, a expansão dos vasos linfáticos foi observada em todos os três subtipos de rosácea, mas não a linfangiogênese. Isto também é suportado pela análise do transcriptoma

demonstrando nenhuma ou uma muito limitada suprarregulação dos genes que estão envolvidos na angiogênese (Schwab e cols., 2011). O envolvimento precoce da dilatação vascular linfática, mesmo em subtipos com edema clinicamente irreconhecível e não apenas em linfedema clinicamente relevante, é intrigante. Até hoje, nenhuma teoria convincente sobre fisiopatogênese parece ser capaz de explicar essas alterações dos vasos linfáticos da rosácea. Mais pesquisas nessa área precisam ser realizadas, porque muitos pacientes com rosácea experimentam a desfiguração induzida pelo linfedema (Steinhoff e cols., 2013).

Schwab e cols. (2011) também revelaram uma co-localização e uma ligação funcional entre os mastócitos, nervos sensoriais não mielinizados, vasos sanguíneos, e miofibroblastos no início de todos os subtipos da rosácea. O aumento isolado da presença de mastócitos, apesar da falta de resposta dos pacientes com rosácea aos anti-histamínicos, sugere o envolvimento de outros mediadores de mastócitos na rosácea, incluindo metabólitos lipídicos ou proteases, por exemplo. Se os sintomas iniciais clássicos da rosácea, como vermelhidão, dor, ardor e sensação de picadas, ocorrerem como resultado de um infiltrado inflamatório, pela ativação de células residentes da pele, ou como resultado de uma desregulação meramente neurovascular por fatores desencadeantes, é uma questão importante para futuras pesquisas neste campo. Não está claro se os mastócitos estão envolvidos também na desregulação dos vasos linfáticos. Como a inibição da ativação dos vasos sanguíneos têm demonstrado exercer efeitos anti-inflamatórios e de vasoconstrição através da via de ativação de receptores β_2 adrenérgicos das células dos músculos lisos das artérias e arteríolas, resultando no alívio do *flushing* da rosácea (por exemplo, a brimonidina, oximetazolina), podemos prever um efeito terapêutico benéfico controlando a vasodilatação e ativação

venosa. (Huggenberger e Detmar, 2011; Fowler e cols., 2012). Se essas drogas também têm uma capacidade anti-inflamatória intrínseca ainda não está claro.

Juntos, tanto a dilatação dos vasos sanguíneos e linfáticos como a ativação de receptores e mediadores vasorreguladores desempenham um papel significativo na RET, RPP, e RF. Se os fatores desencadeantes controlam diretamente a desregulação dos vasos ou indiretamente estimulam a vasodilatação via ativação dos nervos sensoriais e/ou autonômicos, células do sistema imunológico, ou células residentes da pele, isso ainda precisa ser esclarecido (Schwab e cols., 2011).

1.4.7. NEUROMEDIADORES

A análise dos genes dos neuromediadores clássicos e receptores revelou que vários neuropeptídeos, aminas vasoativas, ou TRPs envolvidos na vasorregulação e dor também podem ser expressos por células residentes da pele e/ou células do sistema imunológico. Por exemplo, a PACAP (do inglês, pituitary adenylate cyclase activating polypeptide), um dos mais potentes vasodilatadores em seres humanos, está aumentada em todos os subtipos da rosácea até mais do que 20 vezes, e pode ser liberada por células endoteliais ativadas e mastócitos degranulados (Seeliger e cols., 2010). Outros neuroreceptores suprarregulados são o receptor de serotonina HTR3A, receptores de histamina H2R ou H3R e o receptor para adrenomedulina. Diferentes desses, os receptores NK1 não são suprarregulados, e os níveis de expressão dos canais iônicos TRPV variam amplamente. O importante mediador inflamatório e neurosensorial serotonina (5-hidroxitriptamina) é liberado pelos mastócitos, plaquetas e outros, e o seu papel tem sido investigado em várias

doenças inflamatórias da pele (Powell, 2004; Schwab e cols., 2011). O papel exato desses mediadores e receptores referidos na fisiopatologia de todos os subtipos da rosácea, incluindo a ocular, ainda necessita de esclarecimentos.

1.4.8. RADIAÇÃO UV CRÔNICA

Embora a exposição UV aguda seja um fator desencadeante indiscutível para a rosácea, ainda não está claro o quanto o fotodano crônico contribui para a fisiopatologia da doença, especialmente porque o fotodano não é um sinal característico em pacientes no início da rosácea. Assim, embora a exposição UV seja um fator desencadeante para a exacerbação do *flushing* da rosácea e muitos pacientes, durante o desenvolvimento da doença, apresentarem sinais de fotoenvelhecimento crônico, este ainda precisa ser explorado, a fim de se saber se é uma causa primária ou um ou sintoma secundário ou mesmo apenas um marcador (Morizane e cols., 2010; Schwab e cols., 2011; Yamasaki e Gallo, 2011).

A rosácea e o fotodano são mais comuns em indivíduos de pele clara, os quais apresentam eritema facial crônico e podem ter telangiectasias, e somente prolongando ou intensificando seu *flushing* podemos diferenciar pessoas afetadas de indivíduos saudáveis em fases precoces da doença. Um estudo clínico recente, compreendendo 1.000 indivíduos irlandeses que foram organizados em grupos de acordo com suas diferentes exposições UV, não conseguiu estabelecer um efeito clínico da exposição UV crônica à prevalência de RPP (McAleer e cols., 2010). No entanto, do ponto de vista histopatológico, além das telangiectasias típicas e anguladas, do infiltrado linfocitário perivascular

leve na RET, a elastose solar também é um achado histológico típico mesmo que não seja clinicamente aparente (Cribier, 2013). Além disso, níveis significativamente elevados de espécies reativas de oxigênio, produzidas principalmente na pele após a radiação UV, foram observados nas amostras de pele de pacientes com rosácea (Jones e cols., 2004). As espécies reativas de oxigênio talvez possam ser responsáveis pela iniciação de vários efeitos pró-inflamatórios na pele incluindo a expressão das quimiocinas CCL2 (do inglês, cysteine-cysteine chemokine-2) e CXCL8 (do inglês, cysteine-X-cysteine chemokine – 8) atraindo leucócitos (Gerber e cols., 2011). Mais pesquisas são necessárias para o esclarecimento de uma associação de danos UV crônica com a fisiopatologia da rosácea.

1.4.9. PAPEL DOS MICRO-ORGANISMOS NA ROSÁCEA

Primeiramente, os estudos sobre o papel dos micro-organismos na rosácea tinham como foco a infecção pelo *Helicobacter pylori* (HP), porém esses possuíram resultados contraditórios (Lazaridou e cols., 2011). Bonamigo e cols. (2000) realizaram um estudo caso-controle em Porto Alegre (RS) com 62 casos de rosácea e 124 controles, os dados deste estudo mostram que: os doentes com rosácea não tem uma maior frequência de sintomas de dispepsia ou história pessoal de doença péptica comprovada; não parece haver diferenças na frequência de exposição a HP em diferentes fases na evolução da rosácea (fase I, II, III e variantes); e foi encontrada uma fraca associação entre a exposição ao HP e a rosácea (OR = 1,41; P = 0,367), mas a análise estratificada mostrou que o uso prévio de antibióticos modificou a relação entre o fator estudado e resultado. No estrato onde esta variável modificadora de efeito não interferiu, foi

encontrada uma forte associação entre a bactérias e a dermatose (OR = 5,19; P = 0,005). O uso repetido prolongado de antibióticos no tratamento da rosácea pode diminuir o efeito antigénico do HP, sem erradicar completamente o organismo, resultando em baixos níveis de reatividade, que seriam considerados negativos pelos kits habituais. Assim, 17 dos 33 (55,1%) pacientes com rosácea que já haviam tomado antibióticos sistêmicos apresentaram sorologia não reativa, em comparação com apenas quatro dos 29 (13,8%) pacientes com rosácea que não usaram tais medicamentos; ou seja, o uso de antibióticos sistêmicos levou a um maior número de pacientes com rosácea cujo soro foi não-reactivo a HP. A principal conclusão foi que a HP provavelmente constitui um fator de risco para a rosácea em certos grupos de indivíduos, mas o uso prévio de antibióticos para o tratamento de rosácea (metronidazol, tetraciclina e claritromicina), deve ser considerado um fator de interferência nos estudos sobre a associação, porque estes medicamentos também são úteis para tratar a infecção pelo HP. A não inclusão da análise do uso de antibiótico sistêmico poderia ter contribuído para o fato de que alguns estudos anteriores não apresentarem diferenças entre os sujeitos com rosácea e os controles.

Um membro da microbiota da pele, o ácaro *Demodex*, tem sido estudado em pacientes com rosácea para investigar seu papel na patogênese dessa doença (Crawford e cols., 2004). A importância desse parasita permanece controversa, pois esses ácaros são frequentemente encontrados em pessoas sem manifestações clínicas, e sua prevalência pode chegar a 100% em idosos (Bonnar e cols., 1993). Alguns estudos têm identificado um aumento na prevalência do *Demodex* em pacientes com rosácea (Lazaridou e cols., 2010), porém a maioria dos estudos não demonstra esse aumento (Erbagci e Ozgoztasi, 1998).

Atualmente, a hipótese mais relevante sugere que o sistema imune inato favoreça a hiperproliferação dos ácaros. Esse aumento na proliferação poderia levar a um bloqueio ou ruptura dos folículos, desencadeando uma inflamação local (Crawford e cols., 2004; Buechner, 2005). A densidade dos ácaros está elevada na RPP, mas não na RET (Georgala e cols., 2001). Embora o aumento da densidade do *Demodex* na rosácea nem sempre seja observado, uma meta-análise recente mostrou que a densidade do ácaro e a rosácea tiveram uma associação estatisticamente significativa (Zhao e cols., 2010).

A relação causal dos ácaros *Demodex* com as lesões de pele é suspeita de ser ocasionada através de diversos mecanismos. Esses podem bloquear mecanicamente os folículos, levando a distensão e causando uma hiperqueratose intrafolicular. A presença do exoesqueleto quitinoso pode agir como um corpo estranho e contribuir para formação de granulomas. Os resíduos produzidos pelo ácaro e/ou associado a bactérias podem ativar elementos do sistema imune inato ou estimular o sistema pelo mecanismo de reação de hipersensibilidade tardia (Bevins e Liu, 2007).

Bonamigo et al. (2005) avaliaram a associação e correlação entre a presença do *Demodex folliculorum* e a expressão das metaloproteinases da matriz 2 (MMP-2) e 9 (MMP-9), em pacientes com rosácea. Um estudo transversal foi realizado com 34 pacientes com rosácea com componente inflamatório (25 casos incidentes e nove casos prevalentes). Os dados deste estudo mostram que: (a) *D folliculorum* estava presente em 12 casos (35,3%) da amostra analisada; (b) nenhuma distribuição diferenciada de *D folliculorum* foi detectada entre as etapas e as formas especiais de rosácea inflamatória; (c) a expressão da MMP-2 não foi significativamente diferente entre pacientes com ou sem *D folliculorum*; (d) não foi encontrada correlação linear entre a presença de

D folliculorum e ao grau de positividade e intensidade para a expressão da MMP-2 ; (e) a expressão de MMP-9 foi significativamente maior em fibroblastos nos casos de rosácea quando *D folliculorum* foi apresentado, em comparação com os casos de rosácea sem *D folliculorum* ($P = 0,035$); e (f) foi encontrada uma correlação linear entre a presença de *D folliculorum* e o grau de positividade para a expressão da MMP-9 nos fibroblastos de pacientes com rosácea. As metaloproteinases de matriz (MMPs) são enzimas criadas por células residentes da epiderme e da derme, e ativadas por vários fatores que são tanto internos e externos para os organismos (processo infeccioso, por exemplo). Numa situação de secreção excessiva de MMP e, se as MMPs não são adequadamente bloqueadas pelos seus inibidores de tecidos específicos, a ativação de células inflamatórias, a angiogênese e a desestruturação da arquitetura dérmica, resultante da colagenólise, podem ocorrer (três aspectos muito importantes na patogênese rosácea). Considerando as ações patogênicas reconhecidas e a associação e correlação encontrada neste estudo, conclui-se que a MMP-9 pode ser mais um elo explicativo entre a presença de *D folliculorum* e a expressão clínica de certos casos de rosácea.

Outra hipótese relativa ao papel dos ácaros *Demodex* na indução da rosácea assume que os ácaros são vetores para micro-organismos que causam e exacerbam lesões de pele (Hsu e cols., 2009). A teoria tem sua raiz no fato que a melhora clínica é notada em pacientes que usaram tetraciclina, embora esses antibióticos não demonstraram ação contra o *Demodex* e nem reduziram o número de ácaros na pele. Tem sido sugerido que a atividade benéfica dos antibióticos seja devido às suas propriedades anti-inflamatórias; entretanto, outros agentes anti-inflamatórios, como esteroides ou tacrolimus, intensificam os sintomas da rosácea ou até induzem seu desenvolvimento (Antille e cols., 2004).

Endosimbioses bacterianas poderiam de fato desempenhar um papel importante na patogênese da rosácea, o que explicaria o efeito dos antibióticos nestes pacientes (Buechner, 2005). *Bacillus oleronius*, uma bactéria encontrada no *Demodex*, tem sido ligada ao início da resposta inflamatória nos pacientes com rosácea pela produção de proteínas antigênicas (Lacey e cols., 2007). O processo inflamatório das unidades pilosebáceas da região centrofacial visto na RPP pode ser explicado pelo fato da densidade dos ácaros *Demodex* e consequentemente do *B oleronius* ser maior nesta região (Buechner, 2005; Forton e cols., 2005). A hipótese seria que o acúmulo de ácaros nos folículos causaria distensão e dano desses, permitindo a difusão dos agentes bacterianos pelas paredes dos folículos, resultando numa resposta imune em suas paredes (Lacey e cols., 2007).

As pesquisas mais recente são de Murillo e cols. (2014), que analisaram, através de um sistema de PCR em tempo real, a microbiota do *Demodex* por meio de biópsias de pele, comparando pacientes com rosácea eritematotelangectásica, papulopustulosa e controles. A microbiota de cada ácaro foi caracterizada por uma biblioteca de clones 16S RNAr (ácido ribonucleico ribossomal), constituída de 367 clones obtidos de 73 extratos originados de 5 amostras por grupo estudado (RET, RPP e controles saudáveis). De um total de 86 espécies, 36 foram identificadas como específicas do *Demodex*. No grupo da RPP, proporções de *Proteobacteria* e *Firmicutes* estavam aumentadas, enquanto proporções de *Actinobacteria* estavam diminuídas. Alguns *Bacillus spp.* também foram identificados, no entanto não foi possível identificar o *Bacillus oleronius*.

Alterações das condições fisiológicas da pele podem influenciar na microbiota cutânea e no seu fenótipo. Foi recentemente estabelecido que a pele de pacientes portadores de rosácea papulopustulosa é mais ácida e seca, com

um nível normal de sebo, mas com uma composição diferente de ácidos graxos. Ni Raghallaigh e cols. (2012) sugerem que a natureza do sebo, mais que a quantidade, possa favorecer o desenvolvimento do ácaro *Demodex*. Esses achados levantam a possibilidade que terapias não antibióticas possam restaurar a composição normal dos ácidos graxos do sebo e aumentar a integridade e inibição da proliferação dos ácaros *Demodex*.

Segundo Dahl e cols. (2004), a elevação da temperatura da pele dos pacientes com rosácea, devido aos episódios recorrentes de *flushing*, pode levar a um aumento de liberação de proteínas por bactérias isoladas em pústulas de pacientes com rosácea. Tal estudo, no entanto, possui várias limitações, dentre elas o tamanho da amostra, com apenas 4 pacientes com rosácea papulopustulosa e 4 controles. Em todos foram isoladas bactérias *Staphylococcus epidermidis*, porém nos pacientes com rosácea os estafilococos foram β -hemolíticos enquanto que nos controles foram não hemolíticos. O próprio autor admite o tamanho pequeno da amostra e que os *Staphylococcus epidermidis* encontrados nas pústulas dos pacientes possam ser meros contaminantes da superfície da pele.

Em um estudo australiano, Whitfield isolou colônias puras de *Staphylococcus epidermidis* nas pústulas de 9 de 15 pacientes com rosácea papulopustulosa, enquanto essas não foram isoladas na pele adjacente sem lesão dos mesmos pacientes. Foram realizados antibiogramas para essas 9 colônias onde 9 (100%) foram sensíveis à cefoxitina, cefalexina, gentamicina e vancomicina, 8 (89%) à tetraciclina e eritromicina e apenas 1 (11%) sensível à penicilina (Whitfield e cols., 2011). Outros estudos que corroborassem estes achados seriam importantes.

1.5. TRATAMENTO

Atualmente a rosácea é uma doença sem cura, todavia tratável. O *Rosacea International Expert* (ROSIE) trabalha com a premissa de que o tratamento atual da rosácea não é causal, mas sintomático e, portanto, sinais e sintomas devem estar na vanguarda da tomada de decisão terapêutica.

A condição da pele pode ser melhorada e mantida por uma variedade de tratamentos. Os objetivos do tratamento são:

1. Aliviar os sinais e sintomas, tais como irritação ou vermelhidão da pele e reduzir pápulas e pústulas;
2. Retardar ou prevenir o desenvolvimento das formas leves às mais graves da doença;
3. Facilitar a remissão e evitar exacerbações;
4. Manter a pele na melhor condição possível;
5. Melhorar a qualidade de vida do paciente.

A tríade do cuidado da rosácea, com ênfase na educação do paciente sobre a afecção, nos cuidados com a pele e no tratamento, oferece uma abordagem ampla para lidar com todas as necessidades do paciente e não apenas com os sinais e sintomas específicos da doença. Em pacientes com rosácea eritematotelangectásica, por exemplo, técnicas como o treinamento de relaxamento, psicoterapia cognitivo-comportamental, técnicas de biofeedback ou medicamentos, como antidepressivos ou bloqueadores β -adrenérgicos, podem ser utilizados para resolver os gatilhos emocionais quando esses desempenharem um papel importante (Elewski e cols., 2011).

1.5.1. TRATAMENTOS TÓPICOS

Agentes tópicos fornecem a base do tratamento para muitos pacientes com rosácea. Segundo o último consenso da *American Acne & Rosacea Society* (AARS) é recomendado que terapias tópicas sejam administradas por pelo menos 6 a 8 semanas, e que o metronidazol e o ácido azelaico sejam as primeiras escolhas para a redução das lesões papulopustulosas e do eritema perilesional. Para o tratamento do eritema facial um agonista do receptor α -adrenérgico pode ser acrescentado, e o único aprovado até o momento pela FDA é o tartarato de brimonidina gel (Del Rosso e cols., 2014).

Estudos das propriedades anti-inflamatórias têm mostrado que o metronidazol, um antibiótico imidazólico, é um antioxidante por interferir com a geração e a liberação de espécies de oxigênio reativas a partir de neutrófilos (Miyachi e cols., 1986). Quando liberado no tecido essas espécies reativas de oxigênio causam lesões nos locais de inflamação. O metronidazol foi demonstrado ser eficaz para o tratamento da rosácea moderada a grave em uma série de ensaios controlados com placebo. Esse reduz pápulas, pústulas e, por vezes, eritema, mas não é geralmente eficaz contra telangiectasias (Schmadel e McEvoy, 1990; McClellan e Noble, 2000). Um ensaio aberto multicêntrico com 582 pacientes com rosácea papulopustulosa leve a moderada tratados por 12 semanas com metronidazol 0,75% gel confirmou a eficácia desse agente (Wolf e Del Rosso, 2007). Uma revisão da *Cochrane* de dados agrupados de 174 pacientes demonstrou a segurança e eficácia desse medicamento no tratamento da rosácea e mostrou que o metronidazol tópico foi até seis vezes mais eficaz do que o placebo (van Zuuren e cols., 2005). Outras avaliações mostraram que o metronidazol tópico reduziu as lesões inflamatórias em 48-65%, um intervalo que foi 20-50% maior do que a variação observada para o veículo. Estudos

também demonstraram reduções no ardor, sensação de picada e secura associadas com rosácea (Del Rosso, 2002). Uma meta-análise de taxas de eficácia para diferentes formulações de metronidazol demonstrou que não houve diferenças significativas entre as concentrações de 0,75% e 1%, em creme, gel e loção veículo ou entre a aplicação uma vez ou duas vezes por dia. Preparações contendo álcool podem, contudo, ser mais irritantes (Yoo e cols., 2006). Melhoria nas lesões inflamatórias e no eritema é notado, mas as telangiectasias permanecem inalteradas. Verificam-se diferenças no que diz respeito à absorção percutânea de diferentes concentrações e formulações de metronidazol em um modelo de pele de cadáver humano. Essa foi maior com uma formulação de creme, loção e, em seguida, de gel (Elewski, 2007).

O ácido azelaico (AZA) é um ácido dicarboxílico com propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, e antiqueratinizantes (Stinco e cols., 2007). O seu efeito anti-inflamatório, reduzindo espécies reativas de oxigênio pró-inflamatórias, é tido como base para a sua eficácia no tratamento da rosácea. O ácido azelaico pode inibir a produção de espécies de oxigênio reativas pelos queratinócitos, bem como a suprarregulação de citocinas pró-inflamatórias induzida por UVB como a IL-1, IL-6 e TNF- α no RNAm e os níveis de proteína. Além disso, o AZA parece induzir os receptores proliferadores-ativados de peroxissoma (PPAR γ) RNAm. PPAR γ inibe a proliferação de queratinócitos e reduz as respostas inflamatórias, controlando a liberação de citocinas e a expressão de mediadores inflamatórios. AZA diretamente inibiu a KLK5 em cultura de queratinócitos e a expressão do gene da KLK5, TLR2, e catelicidina na pele de rato. Os pacientes com rosácea mostraram redução no RNA mensageiro de catelicidina e KLK5 após o tratamento com gel de AZA. Indivíduos sem rosácea tiveram menor atividade da protease sérica do que pacientes com rosácea. Subconjuntos distintos de pacientes com rosácea que tiveram alta e

baixa atividade basal da protease sérica foram identificados, e os pacientes com alta atividade apresentaram uma redução estatisticamente significativa da atividade da protease sérica com o tratamento com ácido azeláico gel 15% (Coda e cols., 2013).

Dois estudos duplo-cegos controlados e randomizados, envolvendo 664 pacientes, demonstraram que uma formulação em gel contendo ácido azeláico 15% foi mais eficaz do que apenas o veículo na redução das lesões papulopustulosas e do eritema (Thiboutot e cols., 2003). Assim, a lesão inflamatória diminuiu em média 58% e 51% nos grupos do ácido azeláico versus 40% e 39% nos grupos dos veículos. A redução do eritema foi observada em 44% e 46% nos grupos do ácido azelaico versus 29% e 28% nos grupos do veículo, respectivamente. Análise da *Cochrane Collaboration* confirmaram a eficácia dessa formulação para reduzir lesões inflamatórias e eritema (van Zuuren e cols., 2005; van Zuuren e cols., 2007).

O ácido azeláico tem um perfil de tolerabilidade favorável e não promove resistência bacteriana. As reações cutâneas locais, como a queimação facial, ardor e prurido, podem ocorrer, mas são, na maioria das vezes, classificadas como de leve a moderada intensidade. Noventa por cento dos pacientes consideraram a tolerabilidade local boa ou aceitável (Thiboutot e cols., 2003). O elevado grau de adesão e baixa taxa de descontinuidade foram confirmados pela *Cochrane* (van Zuuren e cols., 2005; van Zuuren e cols., 2007).

Uma análise crítica dos dados clínicos publicados (*Cochrane Database*) demonstrou que atualmente os únicos tratamentos tópicos com uma clara evidência de eficácia terapêutica na rosácea são o ácido azeláico e o metronidazol, em que ambos foram significativamente mais eficazes do que o placebo (van Zuuren e cols., 2005; van Zuuren e cols., 2007).

Mais recentemente, Taieb e cols. (2014) realizaram um estudo comparando a eficácia da ivermectina 1% creme *versus* metronidazol 0,75% creme no tratamento da RPP. Um total de 962 pacientes foram distribuídos aleatoriamente para receber ivermectina 1% creme uma vez ao dia (n = 478) ou metronidazol 0,75% creme duas vezes ao dia (n = 484). Na semana 16, a ivermectina 1% foi significativamente superior ao metronidazol 0,75% em termos de redução das lesões inflamatórias (83,0% vs. 73,7%; p <0,001). A eficácia da ivermectina no tratamento de lesões inflamatórias da rosácea pode estar ligada a ambas as propriedades anti-inflamatórias e anti-parasitárias da medicação. Vários estudos *in vitro* e *in vivo* sugerem que a ivermectina possua propriedades anti-inflamatórias. Uma hipótese seria o bloqueio da via do fator nuclear-kB, o que inibiria a produção induzida por lipopolissacarídeos de citocinas inflamatórias (Zhang e cols., 2008). Além disso, a estrutura de ivermectina é semelhante a dos antibióticos macrolídeos, os quais são conhecidos por exercer um efeito anti-inflamatório. A ivermectina também provoca a morte de parasitas (ex.: *Demodex*), principalmente através da ligação seletiva com grande afinidade para canais de cloro-glutamato (Wolstenholme e Rogers, 2005).

1.5.2. TRATAMENTO SISTÊMICO

As tetraciclinas são conhecidas por modular a resposta inflamatória por meio da infrarregulação da produção de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1 e TNF- α e da produção de espécies reativas de oxigênio (Elewski e cols., 2011). Também são responsáveis pela inibição das metaloproteinases da matriz, as quais participam da patogênese da rosácea (Ryan e cols., 2001; Bonamigo e cols., 2005; Kanada e cols., 2012; Zhang e cols., 2012).

Antigamente, as doses eram administradas em níveis consistentes com atividade antibiótica, por exemplo 100-200 mg/dia para a doxiciclina e 50-100 mg/dia para minociclina. Isso ocasionava preocupações sobre o desenvolvimento de resistência de potenciais bactérias patogênicas. Mais recentemente, uma dose de 40 mg de doxiciclina foi introduzida, que contém 30 mg de liberação imediata e 10 mg de liberação retardada (apresentação farmacêutica ainda não disponível no Brasil). Nessa dose anti-inflamatória, a preparação de doxiciclina não tem atividade antibiótica e, conseqüentemente, não conduz ao desenvolvimento de organismos resistentes aos antibióticos (Berman e cols., 2007). Todavia, segundo Elewski e cols. (2011), na RPP com inflamação grave e inúmeras pápulas e pústulas, a terapia deve iniciar com altas doses de antibióticos orais (ex.: doxiciclina 100-200mg/dia, minociclina 50-100mg/dia ou claritromicina 500mg/dia) durante 4 semanas, com redução de 50% da dose por 3-6 meses.

1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abram K, Silm H, Maaros HI, Oona M. Risk factors associated with rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2010;24(5):565-71.
- Abram K, Silm H, Oona M. Prevalence of rosacea in an Estonian working population using a standard classification. *Acta Derm Venereol*. 2010;90(3):269-73.
- Antille C, Saurat JH, Lubbe J. Induction of rosaceiform dermatitis during treatment of facial inflammatory dermatoses with tacrolimus ointment. *Arch Dermatol*. 2004;140(4):457-60.
- Aubdool AA, Brain SD. Neurovascular aspects of skin neurogenic inflammation. *J Investig Dermatol Symp Proc*. 2011;15(1):33-9.
- Berg M, Liden S. An epidemiological study of rosacea. *Acta Derm Venereol*. 1989;69(5):419-23.
- Berman B, Perez OA, Zell D. Update on rosacea and anti-inflammatory-dose doxycycline. *Drugs Today (Barc)*. 2007;43(1):27-34.
- Bevins CL, Liu FT. Rosacea: skin innate immunity gone awry? *Nat Med*. 2007;13(8):904-6.
- Bonamigo RR, Bakos L, Cartell A, Edelweiss MI. Fatores associados à rosácea em amostras populacionais do Sul do Brasil: análise de estudos casos-controles. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2008;83:419-24.
- Bonamigo RR, Bakos L, Edelweiss M, Cartell A. Could matrix metalloproteinase-9 be a link between *Demodex folliculorum* and rosacea? *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2005;19(5):646-7.

Bonamigo RR, Leite CS, Wagner M, Bakos L. Rosacea and *Helicobacter pylori*: interference of systemic antibiotic in the study of possible association. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2000;14(5):424-5.

Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The Demodex mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol*. 1993;28(3):443-8.

Braff MH, Gallo RL. Antimicrobial peptides: an essential component of the skin defensive barrier. *Current topics in microbiology and immunology*. 2006;306:91-110.

Buechner SA. Rosacea: an update. *Dermatology*. 2005;210(2):100-8.

Coda AB, Hata T, Miller J, Audish D, Kotol P, Two A, *et al*. Cathelicidin, kallikrein 5, and serine protease activity is inhibited during treatment of rosacea with azelaic acid 15% gel. *J Am Acad Dermatol*. 2013;69(4):570-7.

Crawford GH, Pelle MT, James WD. Rosacea: I. Etiology, pathogenesis, and subtype classification. *J Am Acad Dermatol*. 2004;51(3):327-41; quiz 42-4.

Cribier B. Pathophysiology of rosacea: redness, telangiectasia, and rosacea. *Ann Dermatol Venereol*. 2011;138 Suppl 3:S184-91.

Cribier B. Rosacea under the microscope: characteristic histological findings. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013;27(11):1336-43.

Dahl MV, Ross AJ, Schlievert PM. Temperature regulates bacterial protein production: possible role in rosacea. *J Am Acad Dermatol*. 2004;50(2):266-72.

Del Rosso JQ. A status report on the medical management of rosacea: focus on topical therapies. *Cutis*. 2002;70(5):271-5.

Del Rosso JQ, Thiboutot D, Gallo R, Webster G, Tanghetti E, Eichenfield LF, *et al*. Consensus recommendations from the American Acne & Rosacea Society on the management of rosacea, part 5: a guide on the management of rosacea. *Cutis*. 2014;93(3):134-8.

Del Rosso JQ, Webster GF, Jackson M, Rendon M, Rich P, Torok H, *et al.* Two randomized phase III clinical trials evaluating anti-inflammatory dose doxycycline (40-mg doxycycline, USP capsules) administered once daily for treatment of rosacea. *J Am Acad Dermatol.* 2007;56(5):791-802.

Elewski BE. Percutaneous absorption kinetics of topical metronidazole formulations in vitro in the human cadaver skin model. *Adv Ther.* 2007;24(2):239-46.

Elewski BE, Draelos Z, Dreno B, Jansen T, Layton A, Picardo M. Rosacea - global diversity and optimized outcome: proposed international consensus from the Rosacea International Expert Group. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2011;25(2):188-200.

Erbagci Z, Ozgoztasi O. The significance of *Demodex folliculorum* density in rosacea. *Int J Dermatol.* 1998;37(6):421-5.

Feldman SR, Hollar CB, Gupta AK, Fleischer AB, Jr. Women commonly seek care for rosacea: dermatologists frequently provide the care. *Cutis.* 2001;68(2):156-60.

Forton F, Germaux MA, Brasseur T, De Liever A, Laporte M, Mathys C, *et al.* Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatologic practice. *J Am Acad Dermatol.* 2005;52(1):74-87.

Fowler J, Jarratt M, Moore A, Meadows K, Pollack A, Steinhoff M, *et al.* Once-daily topical brimonidine tartrate gel 0.5% is a novel treatment for moderate to severe facial erythema of rosacea: results of two multicentre, randomized and vehicle-controlled studies. *Br J Dermatol.* 2012;166(3):633-41.

Georgala S, Katoulis AC, Kylafis GD, Koumantaki-Mathioudaki E, Georgala C, Aroni K. Increased density of *Demodex folliculorum* and evidence of delayed hypersensitivity reaction in subjects with papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2001;15(5):441-4.

Gerber PA, Buhren BA, Steinhoff M, Homey B. Rosacea: The cytokine and chemokine network. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 2011;15(1):40-7.

Gomaa AH, Yaar M, Eyada MM, Bhawan J. Lymphangiogenesis and angiogenesis in non-phymatous rosacea. *J Cutan Pathol.* 2007;34(10):748-53.

Guzman-Sanchez DA, Ishiujji Y, Patel T, Fountain J, Chan YH, Yosipovitch G. Enhanced skin blood flow and sensitivity to noxious heat stimuli in papulopustular rosacea. *J Am Acad Dermatol.* 2007;57(5):800-5.

Hsu CK, Hsu MM, Lee JY. Demodicosis: a clinicopathological study. *J Am Acad Dermatol.* 2009;60(3):453-62.

Huggenberger R, Detmar M. The cutaneous vascular system in chronic skin inflammation. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 2011;15(1):24-32.

Jansen T, Plewig G. Rosacea: classification and treatment. *J R Soc Med.* 1997;90(3):144-50.

Jones ME, Karlowsky JA, Draghi DC, Thornsberry C, Sahm DF, Bradley JS. Rates of antimicrobial resistance among common bacterial pathogens causing respiratory, blood, urine, and skin and soft tissue infections in pediatric patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004;23(6):445-55.

Kanada KN, Nakatsuji T, Gallo RL. Doxycycline indirectly inhibits proteolytic activation of tryptic kallikrein-related peptidases and activation of cathelicidin. *J Invest Dermatol.* 2012;132(5):1435-42.

Kyriakis KP, Palamaras I, Terzoudi S, Emmanuelides S, Michailides C, Pagana G. Epidemiologic aspects of rosacea. *J Am Acad Dermatol.* 2005;53(5):918-9.

Lacey N, Delaney S, Kavanagh K, Powell FC. Mite-related bacterial antigens stimulate inflammatory cells in rosacea. *Br J Dermatol.* 2007;157(3):474-81.

Larrick JW, Hirata M, Zhong J, Wright SC. Anti-microbial activity of human CAP18 peptides. *Immunotechnology : an international journal of immunological engineering.* 1995;1(1):65-72.

Lazaridou E, Apalla Z, Sotiraki S, Ziakas NG, Fotiadou C, Ioannides D. Clinical and laboratory study of rosacea in northern Greece. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2010;24(4):410-4.

Lazaridou E, Giannopoulou C, Fotiadou C, Vakirlis E, Trigoni A, Ioannides D. The potential role of microorganisms in the development of rosacea. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2011;9(1):21-5.

Liu PT, Krutzik SR, Kim J, Modlin RL. Cutting edge: all-trans retinoic acid down-regulates TLR2 expression and function. *J Immunol.* 2005;174(5):2467-70.

McAleer MA, Fitzpatrick P, Powell FC. Papulopustular rosacea: prevalence and relationship to photodamage. *J Am Acad Dermatol.* 2010;63(1):33-9.

McClellan KJ, Noble S. Topical metronidazole. A review of its use in rosacea. *Am J Clin Dermatol.* 2000;1(3):191-9.

Meyer-Hoffert U, Schroder JM. Epidermal proteases in the pathogenesis of rosacea. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2011;15(1):16-23.

Miyachi Y, Imamura S, Niwa Y. Anti-oxidant action of metronidazole: a possible mechanism of action in rosacea. *Br J Dermatol.* 1986;114(2):231-4.

Morizane S, Yamasaki K, Kabigting FD, Gallo RL. Kallikrein expression and cathelicidin processing are independently controlled in keratinocytes by calcium, vitamin D(3), and retinoic acid. *J Invest Dermatol.* 2010;130(5):1297-306.

Murakami M, Lopez-Garcia B, Braff M, Dorschner RA, Gallo RL. Postsecretory processing generates multiple cathelicidins for enhanced topical antimicrobial defense. *J Immunol.* 2004;172(5):3070-7.

Murillo N, Aubert J, Raoult D. Microbiota of Demodex mites from rosacea patients and controls. *Microb Pathog.* 2014;71-72:37-40.

Ni Raghallaigh S, Bender K, Lacey N, Brennan L, Powell FC. The fatty acid profile of the skin surface lipid layer in papulopustular rosacea. *Br J Dermatol.* 2012;166(2):279-87.

- Nilius B, Owsianik G, Voets T, Peters JA. Transient receptor potential cation channels in disease. *Physiol Rev.* 2007;87(1):165-217.
- Park K, Elias PM, Oda Y, Mackenzie D, Mauro T, Holleran WM, *et al.* Regulation of cathelicidin antimicrobial peptide expression by an endoplasmic reticulum (ER) stress signaling, vitamin D receptor-independent pathway. *J Biol Chem.* 2011;286(39):34121-30.
- Plewig G, Kligman AM, editors. *Acne and Rosacea.* 3 rd ed. Berlin: Springer; 2000. 744 p.
- Powell FC. The histopathology of rosacea: 'where's the beef?'. *Dermatology.* 2004;209(3):173-4.
- Powell FC. Clinical practice. Rosacea. *N Engl J Med.* 2005;352(8):793-803.
- Ryan ME, Usman A, Ramamurthy NS, Golub LM, Greenwald RA. Excessive matrix metalloproteinase activity in diabetes: inhibition by tetracycline analogues with zinc reactivity. *Curr Med Chem.* 2001;8(3):305-16.
- Schaefer I, Rustenbach SJ, Zimmer L, Augustin M. Prevalence of skin diseases in a cohort of 48,665 employees in Germany. *Dermatology.* 2008;217(2):169-72.
- Schauber J, Gallo RL. Expanding the roles of antimicrobial peptides in skin: alarming and arming keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 2007;127(3):510-2.
- Schauber J, Gallo RL. Antimicrobial peptides and the skin immune defense system. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;122(2):261-6.
- Schauber J, Gallo RL. The vitamin D pathway: a new target for control of the skin's immune response? *Exp Dermatol.* 2008;17(8):633-9.
- Schmadel LK, McEvoy GK. Topical metronidazole: a new therapy for rosacea. *Clin Pharm.* 1990;9(2):94-101.
- Schwab VD, Sulk M, Seeliger S, Nowak P, Aubert J, Mess C, *et al.* Neurovascular and neuroimmune aspects in the pathophysiology of rosacea. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2011;15(1):53-62.

Seeliger S, Buddenkotte J, Schmidt-Choudhury A, Rosignoli C, Shpacovitch V, von Arnim U, *et al.* Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide: an important vascular regulator in human skin in vivo. *The American journal of pathology.* 2010;177(5):2563-75.

Spoendlin J, Voegel JJ, Jick SS, Meier CR. A study on the epidemiology of rosacea in the U.K. *Br J Dermatol.* 2012;167(3):598-605.

Steinhoff M, Bergstresser PR. Pathophysiology of rosacea: introduction. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2011;15(1):1.

Steinhoff M, Buddenkotte J, Aubert J, Sulk M, Novak P, Schwab VD, *et al.* Clinical, cellular, and molecular aspects in the pathophysiology of rosacea. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2011;15(1):2-11.

Steinhoff M, Schaubert J, Leyden JJ. New insights into rosacea pathophysiology: a review of recent findings. *J Am Acad Dermatol.* 2013;69(6 Suppl 1):S15-26.

Stinco G, Bragadin G, Trotter D, Pillon B, Patrone P. Relationship between sebostatic activity, tolerability and efficacy of three topical drugs to treat mild to moderate acne. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2007;21(3):320-5.

Taieb A, Ortonne JP, Ruzicka T, Roszkiewicz J, Berth-Jones J, Peirone MH, *et al.* Superiority of ivermectin 1% cream over metronidazole 0.75% cream in treating inflammatory lesions of rosacea: a randomized, investigator-blinded trial. *Br J Dermatol.* 2014.

Thiboutot D, Thieroff-Ekerdt R, Graupe K. Efficacy and safety of azelaic acid (15%) gel as a new treatment for papulopustular rosacea: results from two vehicle-controlled, randomized phase III studies. *J Am Acad Dermatol.* 2003;48(6):836-45.

Tony Burns, Stephen Breathnach, Neil Cox, Griffiths C. *Rook's Textbook of Dermatology.* 2010 ed. UK: Wiley-Blackwell; 2010. 43.1-7

p.

Tore F, Tuncel N. Mast cells: target and source of neuropeptides. *Curr Pharm Des.* 2009;15(29):3433-45.

van Zuuren EJ, Graber MA, Hollis S, Chaudhry M, Gupta AK, Gover M. Interventions for rosacea. *Cochrane Database Syst Rev.* 2005(3):CD003262.

van Zuuren EJ, Gupta AK, Gover MD, Graber M, Hollis S. Systematic review of rosacea treatments. *J Am Acad Dermatol.* 2007;56(1):107-15.

Whitfeld M, Gunasingam N, Leow LJ, Shirato K, Preda V. Staphylococcus epidermidis: a possible role in the pustules of rosacea. *J Am Acad Dermatol.* 2011;64(1):49-52.

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. *J Am Acad Dermatol.* 2002;46(4):584-7.

Wilkin J, Dahl M, Detmar M, Drake L, Liang MH, Odom R, *et al.* Standard grading system for rosacea: report of the National Rosacea Society Expert Committee on the classification and staging of rosacea. *J Am Acad Dermatol.* 2004;50(6):907-12.

Wilkin JK. Rosacea. Pathophysiology and treatment. *Arch Dermatol.* 1994;130(3):359-62.

Wolf JE, Jr., Del Rosso JQ. The CLEAR trial: results of a large community-based study of metronidazole gel in rosacea. *Cutis.* 2007;79(1):73-80.

Wolstenholme AJ, Rogers AT. Glutamate-gated chloride channels and the mode of action of the avermectin/milbemycin anthelmintics. *Parasitology.* 2005;131 Suppl:S85-95.

Yamasaki K, Di Nardo A, Bardan A, Murakami M, Ohtake T, Coda A, *et al.* Increased serine protease activity and cathelicidin promotes skin inflammation in rosacea. *Nat Med.* 2007;13(8):975-80.

Yamasaki K, Gallo RL. The molecular pathology of rosacea. *J Dermatol Sci.* 2009;55(2):77-81.

Yamasaki K, Gallo RL. Rosacea as a disease of cathelicidins and skin innate immunity. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2011;15(1):12-5.

Yamasaki K, Kanada K, Macleod DT, Borkowski AW, Morizane S, Nakatsuji T, *et al.* TLR2 expression is increased in rosacea and stimulates enhanced serine protease production by keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 2011;131(3):688-97.

Yamasaki K, Schaubert J, Coda A, Lin H, Dorschner RA, Schechter NM, *et al.* Kallikrein-mediated proteolysis regulates the antimicrobial effects of cathelicidins in skin. *FASEB J.* 2006;20(12):2068-80.

Yoo J, Reid DC, Kimball AB. Metronidazole in the treatment of rosacea: do formulation, dosing, and concentration matter? *J Drugs Dermatol.* 2006;5(4):317-9.

Zhang X, Song Y, Ci X, An N, Ju Y, Li H, *et al.* Ivermectin inhibits LPS-induced production of inflammatory cytokines and improves LPS-induced survival in mice. *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society [et al].* 2008;57(11):524-9.

Zhang Y, Gu Y, Lee HM, Hambardjieva E, Vrankova K, Golub LM, *et al.* Design, synthesis and biological activity of new polyenolic inhibitors of matrix metalloproteinases: a focus on chemically-modified curcumins. *Curr Med Chem.* 2012;19(25):4348-58.

Zhao YE, Wu LP, Peng Y, Cheng H. Retrospective analysis of the association between Demodex infestation and rosacea. *Arch Dermatol.* 2010;146(8):896-902.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

Avaliar a presença de agentes bacterianos nas lesões pustulosas de pacientes com rosácea subtipo 2 (papulopustulosa), em amostra de um centro de referência em atendimento de Dermatologia da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul (Brasil).

2.2. ESPECÍFICOS

2.2.1. Verificar o perfil de sensibilidade a antibióticos dos agentes bacterianos isolados nos pacientes com lesões pustulosas da rosácea subtipo 2, em amostra de um centro de referência em atendimento de Dermatologia da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul (Brasil).

2.2.2. Verificar a presença da flora cutânea na área de pele adjacente às lesões pustulosas dos pacientes com rosácea subtipo 2, em amostra de um centro de referência em atendimento de Dermatologia da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul (Brasil).

3. ARTIGO CIENTÍFICO REDIGIDO EM INGLÊS

O artigo foi aceito pelo *Journal of American Academy of Dermatology* (FI=4.906) e o seu formato descrito abaixo está em acordo com o solicitado pela revista. Comprovante de aceitação (**anexo 4**).

Title: Could a simple microbiological culture and an antibiogram guide the treatment of our patients with papulopustular rosacea?

Authors:

Wagner Bertolini, M.D., Federal University of Health Science of Porto Alegre, Brazil.

Rodrigo Pereira Duquia, Ph.D., Federal University of Health Science of Porto Alegre, Brazil.

Osmar Luiz Magalhães de Oliveira, Ph.D., Federal University of Rio Grande do Sul State, Porto Alegre, Brazil.

Fernanda de Campos Gonçalves, M.D., Federal University of Health Science of Porto Alegre, Brazil.

Renan Rangel Bonamigo, Ph.D., Federal University of Health Science of Porto Alegre, Brazil.

The authors have no conflict of interest to declare.

Our study was approved by the Research Ethics Committee of Federal University of Health Science of Porto Alegre, Brazil.

Funding Sources: Pos-Graduate Program of Pathology – UFCSPA / Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), Ministry of Education, Brazil.

Corresponding author:

Wagner Bertolini

Rua Jorge Hoelzel, n.449, Santa Cruz do Sul – RS, Brazil.

CEP: 96825-100

Telephone: +55 51 96757737 and Fax: +55 51 21074333

E-mail: wagber@hotmail.com

Keywords: rosacea; pustule; microbiological; culture; antibiogram; papulopustular.

Could a simple microbiological culture and an antibiogram guide the treatment of our patients with papulopustular rosacea?

After reading and appreciating the paper “*Staphylococcus epidermidis*: a possible role in the pustules of rosacea” authored by Whitfeld et al.,¹ we considered performing microbiological cultures and antibiograms in the pustules of our patients with papulopustular rosacea (PPR) and treating it with sensitive antibiotics, thus avoiding their empirical use.

Whitfeld et al. isolated pure colonies of *Staphylococcus epidermidis* from pustules of 9 out of 15 PPR patients, but not from the surrounding lesion-free skin. These nine colonies were analyzed by antibiograms, and nine (100%) of them were sensitive to cefoxitin, cephalexin, gentamicin, and vancomycin, eight (89%) to tetracycline and erythromycin, and only one (11%) to penicillin.¹

We conducted a similar cross-sectional study; however, we obtained different results. All our PPR patients diagnosed at our outpatient clinic between 2013 and 2014 were selected following the National Rosacea Society Expert Committee criteria.² Those patients on antimicrobial drugs use or treated in the past 15 days were excluded from the study. Twenty-two PPR patients were selected – 15 (68.18%) women and seven (31.82%) men – with a mean age of 51 years and a standard deviation of 14 years (Table I).

Two microbiological cultures were obtained from each patient. The first one was obtained by running a sterile transport swab, containing Copan Amies Agar gel (COPAN Italia, Italy), over the skin in a lesion-free area, at least 2 cm away from the pustule. After collection, the skin was cleansed with a 70% alcohol swab and the roof of the pustule was incised with a sterile needle, extruding the purulent material onto another sterile transport swab. The swabs were immediately taken to the laboratory, where they were streaked onto blood agar plates and cultured aerobically at 37°C for 48 to 72 hours. After incubation, morphologic tests were performed to identify the bacterial organisms and differentiate staphylococci, micrococci, and related genera. If a pure growth of a *Staphylococcus* colony was confirmed, the species was identified by the coagulase test and API STAPH identification kit (bioMérieux, France), and standardized antibiograms were then performed using the Kirby-Bauer disc diffusion method.

Among the 22 pustule cultures, only two (9.1%) revealed bacterial growth. There was no bacterial growth on the healthy skin of patients.

Staphylococcus aureus colonies were sensitive to doxycycline, gentamicin, nitrofurantoin, norfloxacin, oxacillin, and sulfamethoxazole/trimethoprim in one patient whereas *Staphylococcus epidermidis* colonies were sensitive to

clindamycin, chloramphenicol, doxycycline, erythromycin, gentamicin, rifampin, oxacillin, and sulfamethoxazole/trimethoprim in another patient.

Further studies are needed to assess the actual role of bacteria in the pathogenesis of rosacea, and for now, simple microbiological cultures and antibiograms do not seem to be very useful in the management of these patients. Perhaps more sensitive and specific tests, such as real-time PCR, may isolate microorganisms and partly explain the pathogenesis.³⁻⁵ Studies with negative results, such as that of Murillo *et al.*³ and the one described herein, may also be considered important for understanding this complex disease.

Abbreviations:

PCR: Polymerase chain reaction

PPR: Papulopustular rosacea

References:

1. Whitfeld M, Gunasingam N, Leow LJ, Shirato K, Preda V. *Staphylococcus epidermidis*: a possible role in the pustules of rosacea. *J Am Acad Dermatol.* 2011;64(1):49-52.
2. Wilkin J, Dahl M, Detmar M, Drake L, Liang MH, Odom R, et al. Standard grading system for rosacea: report of the National Rosacea Society Expert Committee on the classification and staging of rosacea. *J Am Acad Dermatol.* 2004;50(6):907-12.
3. Murillo N, Aubert J, Raoult D. Microbiota of Demodex mites from rosacea patients and controls. *Microb Pathog.* 2014;71-72:37-40.

4. Lazaridou E, Giannopoulou C, Fotiadou C, Vakirlis E, Trigoni A, Ioannides D. The potential role of microorganisms in the development of rosacea. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2011;9(1):21-5.

5. Steinhoff M, Schaubert J, Leyden JJ. New insights into rosacea pathophysiology: a review of recent findings. *J Am Acad Dermatol.* 2013;69(6 Suppl 1):S15-26.

Table I: Baseline characteristics of rosacea patients (UFCSPA 2013-2014)

	n=22	
	N	%
Gender		
Female	15	68.18
Male	7	31.82
Smoking status		
Never smoked	21	95.45
Ex-smoker	1	4.55
Active smoker	0	
Family history of rosacea		
Yes	8	36.36
No	14	63.64
Photosensitive skin type by Fitzpatrick		
I-II	6	27.27
III-VI	16	72.73
Triggering factors:		
Sun exposure	22	100
Heat exposure	20	90.91
Stress	16	72.73
Ingestion of alcoholic beverages	10	45.45
Ingestion of hot beverages	9	40.91
Severity grading of PPR*		
Mild	6	27.27
Moderate	11	50.00
Severe	5	22.73

*Standard grading system of the National Rosacea Society Expert Committee.²

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A rosácea é uma doença subdiagnosticada e provavelmente com destacada prevalência, principalmente no Rio Grande do Sul, onde grande parte da população é de origem caucasiana. Porém, ainda não temos estudos de prevalência aqui no Brasil, e o que sabemos é que a maioria dos pacientes apresenta a forma eritematotelangectásica da doença. Os pacientes com RPP geralmente apresentam-se na consulta usando algum tipo de antibiótico tópico ou sistêmico (critério de exclusão do nosso estudo).

É uma doença de etiologia multifatorial, e o que se conhece definitivamente são alguns fatores agravantes, como alterações de caráter emocional, alterações climáticas, exposição solar e ingestão de bebidas alcoólicas. Os fatores etiológicos, no entanto, permanecem desconhecidos.

Durante o período de realização deste trabalho, novos estudos foram sendo publicados com novas teorias sobre a patogênese dessa instigante doença.

Apesar de as descobertas desses estudos sobre os princípios fisiopatológicos da rosácea, muitos outros trabalhos precisam ser realizados para compreendermos a rede complexa e desregulada de células e mediadores dessa doença. As pesquisas atuais focalizando as causas subjacentes estão na direção de uma predisposição genética e de alguns fatores desencadeantes que ajudam a estabelecer o sintoma de *flushing* transitório, a manifestação clínica inicial da rosácea. A indução do sistema imune inato e a hiperestimulação do sistema nervoso sensorial e/ou autonômico, associada com a desregulação vascular das arteríolas e pós-vênulas, podem ser os processos patológicos

iniciais responsáveis pelo *flushing* e, em última instância, resultando na inflamação crônica e na fibrose (Steinhoff e cols., 2013).

Pesquisas futuras devem abordar a comunicação entre o sistema nervoso da pele e o sistema imune inato (em relação à ativação e inibição), a contribuição ativa e passiva do sistema imune adaptativo para essa doença, a regulação da dilatação dos vasos sanguíneos e linfáticos e sua interação com o sistema nervoso cutâneo, bem como a sua comunicação com as células imunes e o controle da ativação de fibroblastos, além das consequências da ativação dos queratinócitos (Steinhoff e cols., 2013).

A compreensão desses princípios fisiopatológicos subjacentes a essa doença nos permitirá desenvolver novos alvos para uma intervenção médica e, eventualmente, adicionar novos e melhores tratamentos para o arsenal bastante limitado de opções terapêuticas na rosácea.

Dentre as opções terapêuticas, o antibiótico doxiciclina ainda continua sendo a melhor opção. Apesar de a maioria dos estudos indicar uma dosagem oral de 40mg/dia (teoricamente apenas anti-inflamatória) para o controle das lesões papulopustulosas (Berman e cols., 2007), é reconhecido que muitas vezes é necessário utilizar uma dosagem elevada (entre 100-200mg/dia, ou seja, doses com atividade antibiótica e não apenas imunorreguladora), para controlar lesões papulopustulosas de pacientes com maior gravidade clínica (Elewski e cols., 2011). Esta é uma situação que continua sem uma explicação plausível. Talvez com novos estudos sobre a microbiota dos ácaros *Demodex* possamos obter novas respostas.

Mais pesquisas precisam ser realizadas para avaliarmos o verdadeiro papel das bactérias na patogênese da rosácea e, por enquanto, simples exames

bacteriológicos e antibiogramas parecem não serem capazes de auxiliar o manejo desses pacientes.

5. ANEXOS

5.1. ANEXO 1 - PROTOCOLO DE PESQUISA

PROTOCOLO PARA AVALIAÇÃO DOS PACIENTES

Ambulatório: _____

1. Dados Pessoais

Protocolo número: _____ Data: _____

Nome paciente: _____

Idade: _____ Data nascimento: _____ Tempo de doença: _____

Endereço: _____

Telefone: _____

Número do protocolo do serviço em que é atendido _____

Uso de antibióticos nos últimos 30 dias: () Sim () Não

Tabagista: () Sim () Não

Fotipo de Fitzpatrick: () I ou II () III, IV, V, VI

História de rosácea em familiar de 1º grau: () Sim () Não

As lesões pioram com:

Estresse emocional: () Sim () Não

Bebidas alcoólicas: () Sim () Não

Bebidas quentes: () Sim () Não

Exposição solar: () Sim () Não

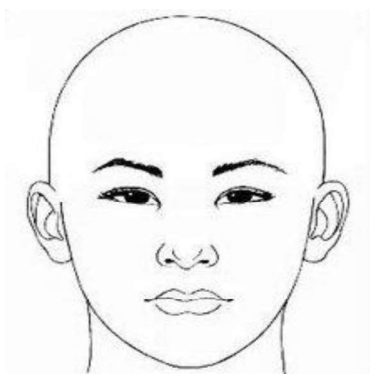
Calor: () Sim () Não

Tabela de graduação da rosácea papulopustulosa (Wilkin e cols., 2004)
modificada

Severidade	Pápulas/Pústulas	Placas
Leve	Poucas (1-2)	Nenhuma
Moderado	Várias ou Muitas (3 ou +)	Nenhuma
Grave	Muitas e/ou Extensas (+2 regiões da face)	Nenhuma/Presente

Gravidade da Rosácea subtipo 2: () Leve () Moderada () Grave

Locais de Coleta:



Região Malar: () Sim () Não

Região Nasal: () Sim () Não

Região Mentoniana: () Sim () Não

Região Frontal: () Sim () Não

Resultados:

Pústula	Pele adjacente sem lesão
Bacteriológico:	Bacteriológico:
Antibiograma:	
Sensíveis:	
Intermediários:	
Resistentes:	

5.2. ANEXO 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO:

Você está sendo convidado participar deste projeto de pesquisa com o título: "**Perfil microbiológico e de sensibilidade bacteriana a antibióticos em pacientes portadores de rosácea papulopustulosa**", sob a responsabilidade dos pesquisadores, Renan Rangel Bonamigo, Wagner Bertolini, Rodrigo Pereira Duquia e Osmar Luiz Magalhães de Oliveira. Abaixo estão todas as informações sobre a pesquisa que estamos fazendo. Sua colaboração será de muita importância para nós, mas, se desistir a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo para seu tratamento. Não haverá nenhum custo financeiro na sua participação no projeto e você levará no máximo 20 minutos para responder as perguntas e coletar o exame.

JUSTIFICATIVA: a rosácea é uma doença de causa desconhecida. Acreditamos que bactérias presentes nas lesões de pele possam ser as responsáveis, uma vez que o uso de antibióticos melhora as lesões, porém estes são usados de forma indiscriminada. Para identificarmos bactérias nas suas lesões e testarmos os antibióticos mais eficazes, precisamos coletar a secreção (pus) das lesões amareladas parecidas com “espinhas” presentes na sua face. Isto será feito da seguinte maneira:

Primeiramente realizaremos a coleta em uma área de pele da sua face sem lesão. Essa coleta será realizada passando sobre sua pele um instrumento semelhante a um cotonete (swab).

Logo após, realizaremos a limpeza com álcool 70% de uma área de pele com lesão. Em seguida, faremos um pequeno corte superficial com uma lâmina estéril somente em cima da lesão semelhante a uma “espinha” para coletarmos a secreção de dentro desta com outro cotonete (swab). Os materiais coletados serão colocados em um tubo estéril e encaminhados ao Laboratório Mont’ Serrat para análise.

Após cerca de 2 a 3 semanas você será contatado por telefone para retornar ao mesmo local da coleta para uma consulta médica, onde será informado o resultado desse exame.

DESCONFORTOS OU RISCOS ESPERADOS: caso você sinta vergonha ou desconforto em responder ao questionário, ao ser examinado ou durante a coleta do exame, poderá se negar a participar ou desistir a qualquer momento, sem nenhuma penalidade ou prejuízo pessoal. Você pode sentir um leve desconforto durante a coleta do exame. As chances de infecção da pele no local da coleta são mínimas, pois todo o procedimento será realizado com técnica asséptica (limpa) e material estéril e descartável. Ao perceber qualquer efeito adverso, você poderá ligar para o número (51) 96757737 e informar ao pesquisador responsável para que você seja avaliado.

BENEFÍCIOS QUE SE PODE OBTER: o benefício que você pode obter com essa pesquisa é que, identificando a presença de bactérias e a sensibilidade a certos antibióticos em pacientes com rosácea, poderemos reavaliar condutas que possam melhorar o seu tratamento e de outros pacientes.

GARANTIA DE RESPOSTA A QUALQUER PERGUNTA: você tem a garantia de poder obter informações a qualquer momento dos procedimentos e métodos utilizados neste estudo, bem como dos resultados, parciais e finais, desta pesquisa. Para tanto, poderá consultar o pesquisador responsável citado abaixo ou o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (RS).

LIBERDADE DE ABANDONAR A PESQUISA SEM PREJUÍZO PARA SI: você tem a liberdade de recusar-se, desistir ou de interromper a colaboração nesta pesquisa no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação. A sua desistência não causará nenhum prejuízo à sua saúde.

GARANTIA DE PRIVACIDADE: os resultados deste estudo serão mantidos em sigilo, mas poderão ser divulgados em publicações científicas. Seus dados pessoais serão mantidos em sigilo.

Eu, _____, recebi as informações sobre os objetivos da pesquisa de forma clara e concordo em participar do estudo. Declaro que recebi cópia do presente Termo de Consentimento. Caso eu tenha novas perguntas ou dúvidas sobre este estudo, posso contatar o Dr. Renan Rangel Bonamigo (pesquisador responsável) ou o Dr. Wagner Bertolini pelo telefone (51) 96757737 e o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre pelo telefone: (51) 33038804.

Assinatura do Paciente.

Assinatura do Pesquisador.

Porto Alegre, ____ de _____ de 201__

5.3. ANEXO 3 - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA DA UFCSPA:

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PERFIL MICROBIOLÓGICO E DE SENSIBILIDADE BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS EM PACIENTES PORTADORES DE ROSÁCEA PAPULOPUSTULOSA.

Pesquisador: Renan Rangel Bonamigo

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 16455613.0.0000.5345

Instituição Proponente: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 324.016

Data da Relatoria: 20/06/2013

Apresentação do Projeto:

O projeto está baseado na hipótese de Whitfield, que alguma bactéria possa ser a responsável pelo surgimento das lesões papulopustulosas da rosácea, já que os antibióticos possuem um papel importante no controle desta. Trata-se de um estudo transversal, com coleta de secreção de lesões pustulosas e da pele adjacente de todos os pacientes maiores de 18 anos com diagnóstico de rosácea papulopustulosa (subtipo 2) que consultarem no serviço de dermatologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, para realização de bacteriológico e antibiogramas específicos.

Objetivo da Pesquisa:

Principal:

Avaliar a presença de agentes bacterianos nas lesões pustulosas da rosácea subtipo 2 (papulopustulosa) em um centro de referência em atendimento de Dermatologia da cidade de Porto Alegre.

Específicos:

- Verificar o perfil de sensibilidade a antibióticos dos agentes bacterianos isolados nos pacientes

Endereço: Rua Sarmiento Leite, 245

Bairro:

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3333-8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 324.016

com lesões pustulosas da rosácea subtipo 2.

- Verificar a presença da flora cutânea na área de pele adjacente às lesões pustulosas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Leve desconforto durante a coleta do exame. As chances de infecção da pele no local da coleta são mínimas, pois todo o procedimento será realizado com técnica asséptica e material estéril e descartável.

Benefícios:

Identificando a presença de bactérias e a sensibilidade a certos antibióticos em pacientes com rosácea, poderemos reavaliar condutas que possam melhorar o tratamento do paciente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Local da Pesquisa: Ambulatório do Serviço de Dermatologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFSCPA) no Centro de Saúde Santa Marta; Laboratório MontSerrat.

Tamanho da Amostra no Brasil: 30 encaminhados ao Laboratório MontSerrat, onde serão cultivados em meios de cultura aeróbico em temperatura de 37° C, sendo posteriormente realizados antibiogramas, se crescimento bacteriano.

Critério de Inclusão:

Serão incluídos todos os pacientes com mais de 18 anos de idade atendidos no Serviço de Dermatologia da UFSCPA durante o período com diagnóstico de rosácea subtipo 2 e que apresentarem lesões pustulosas em face.

Critério de Exclusão:

Serão excluídos do estudo, pacientes em uso de medicamentos antimicrobianos ou que tenham realizado tratamento nos últimos 30 dias.

Endereço: Rua Sarmento Leite, 245

Bairro:

CEP: 91.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)303-8804

E-mail: cep@ufscpa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 304.016

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE: Adequado.

Financiamento: Apresentado orçamento de R\$2170,50, assinado pelo pesquisador. Os custos serão por conta dos pesquisadores.

Recomendações:

Não identificar o paciente pelo nome no protocolo de coleta de dados anexo 1, sugiro as letras iniciais do nome.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com o Parecer do Relator.

PORTO ALEGRE, 03 de Julho de 2013

Assinador por:

José Geraldo Vernet Taborda
(Coordenador)

Endereço: Rua Sarmiento Leite, 245

Bairro:

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)303-8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

5.4. ANEXO 4 – CONFIRMAÇÃO DE ACEITAÇÃO DO ARTIGO.

Transcrição do e-mail recebido em 08/04/2015:

De: "Journal of the American Academy of Dermatology" <JAAD@aad.org>

Data: 8 de abril de 2015 14:39:31 BRT

Para: wagber@hotmail.com

Assunto: Your submission to The Blue Journal

Ref.: Ms. No. JAAD-D-15-00308R1

Journal of the American Academy of Dermatology

Could a simple microbiological culture and an antibiogram guide the treatment of our patients with papulopustular rosacea?

Dear Dr. Bertolini:

I am pleased to tell you that your work has now been accepted for publication in Journal of the American Academy of Dermatology.

When your paper is published on ScienceDirect, you want to make sure it gets the attention it deserves. To help you get your message across, Elsevier has developed a new, free service called AudioSlides: brief, webcast-style presentations that are shown (publicly available) next to your published article. This format gives you the opportunity to explain your research in your own words and attract interest. You will receive an invitation email to create an AudioSlides presentation shortly. For more information and examples, please visit <http://www.elsevier.com/audioslides>.

Thank you for submitting your work to The Blue Journal.

Sincerely,

Dirk M. Elston, M.D.

Deputy Editor

Journal of the American Academy of Dermatology