

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „VICTOR  
BABEȘ” TIMIȘOARA  
FACULTATEA DE MEDICINĂ  
Departamentul de DERMATOLOGIE**

**DOCTORAND  
BOTA SANDA IZABEL**



**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**CONTRIBUȚII CU PRIVIRE LA PREVENIREA  
EFECTULUI DE FOTOÎMBĂTRÂNIRE PRIN  
TERAPII CU FACTORI DE CREȘTERE ȘI  
ANTIOXIDANȚI**

Conducător științific

**PROF. UNIV. DR. CAIUS SOLOVAN**

**Timișoara  
2019**

## Cuprins

<b>Introducere.....</b>	<b>2</b>
<b>Partea Generala</b>	
I.1 Îmbătrânirea și foto îmbătrânirea.....	4
1.1 Îmbătrânirea și tegumentului.....	41.2
Teorii de îmbătrânire a tegumentulu.....	4
1.2.1Teoria radicalilor liberi .....	4
1.2.2 Senescenta celulara și scurtarea telomerilor.....	5
1.2.3 Teoria mitochondriei.....	5
1.3 Foto-îmbătrânirea.....	5
II.2 Modificari degenerative în foto-îmbătrânire.....	6
III.3 Mecanisme de aparare și tartare a photo-îmbătrânirii.....	6
3.1 Protectia solară.....	6
3.2 Antioxidanți.....	6
<b>Partea Speciala</b>	
III.1 Analiza statistică privind comportamentul de expunere solară.....	8
III.2 Eficacitatea antioxidantă.....	8
III.3 Evaluarea <i>in vitro</i> a rolului de potoprotectie a PRP si a antioxidantilor orali asupra fibroblastelor umane.....	9
III.4 Activarea biologică a citokinelor pentru a determina concentrația de TNF- $\alpha$ , TGF și PDGF în diferite fototipuri ale pielii.....	10

Cuvinte cheie: foto-îmbătrânire, antioxidanți, PRP, citokine, protecție solară

## INTRODUCERE

În întreaga lume, de-a lungul timpului, oamenii au căutat obsesiv "formule magice" pentru tinerețea veșnică. Această fascinație a înfrângerii morții și a menținerii aspectului tineresc a intrigat multe culture timp de secole. Cleopatra se îmbaia în lapte. În secolul IV î.Hr., Alexandru cel Mare găsisese un râu cu proprietăți vindecătoare. Ponce de Leon, primul guvernator al orașului Porto Rico, căuta fântâna tinereții în secolul al XIV-lea.(1) Elizabeth Bathory, o contesă maghiară din secolul al XVI-lea, se umezea în sângele virginelor. (2) Nu în ultimul rând, fostul prim-ministru al Indiei, Morarii Desai își bea în mod regulat urina pentru a-și menține tinerețea veșnică. (3) Indiferent de căutările disperate facute de-a lungul timpului și căilor de a le aplica, toate sunt lucruri și fapte ne adevărate și, din fericire cercetările științifice sunt cele care ne vor ajuta să găsim formulele magice pentru găsirea tinereții veșnice

Tinereția veșnică este o cercetare îndelungată departe de a se sfârși. Societatea de astăzi încă este în cautarea veștii veșnice. Piața produselor care stopează procesul de îmbătrânire este într-o mare creștere. Multe studii din ultimele decenii au arătat o creștere a vigilenței cu privire la procesul, gestionarea, tratamentul și prevenirea îmbătrânirii și foto îmbătrânirii. Această călătorie rapidă spre întinerire este, probabil, datorată creșterii duratei medii de viață. Potrivit Organizației Mondiale a Sănătății (OMS), speranța medie de viață globală a crescut cu 5,5 ani în ultimii 15 ani. Cu fiecare cercetare sperăm să ne apropiem mai mult de găsirea unui tratament pentru această boală new-age. Consumatori își doresc produse de îngrijire a pielii, fie aplicate local sau luate sistemic, care le pot schimba aspectul distructiv indus de îmbătrânirea cronologică și de radiațiile UV și le oferă aspectul dorit care se potrivește vârstei lor mintale și nu a vârstei cronologice

Tinereția veșnică este o cercetare îndelungată departe de a se sfârși. Societatea de astăzi încă este în cautarea veștii veșnice. Piața produselor care stopează procesul de îmbătrânire este într-o mare creștere. Multe studii din ultimele decenii au arătat o creștere a vigilenței cu privire la procesul, gestionarea, tratamentul și prevenirea îmbătrânirii și foto îmbătrânirii. Această călătorie rapidă spre întinerire este, probabil, datorată creșterii duratei medii de viață. Potrivit Organizației Mondiale a Sănătății (OMS), speranța medie de viață globală a crescut cu 5,5 ani în ultimii 15 ani. Cu fiecare cercetare sperăm să ne apropiem mai mult de găsirea unui tratament pentru această boală new-age. Consumatori își doresc produse de îngrijire a pielii, fie aplicate local sau luate sistemic, care le pot schimba aspectul distructiv indus de îmbătrânirea cronologică și de radiațiile UV și le oferă aspectul dorit care se potrivește vârstei lor mintale și nu a vârstei cronologice. Îmbătrânirea pielii este influențată de o combinație de factori extrinseci și intrinseci care conduc la distrugerea structurii și funcției pielii. Au apărut în ultimii ani diferite teorii despre îmbătrânirea pielii care duc la declanșarea mecanismelor de îmbătrânire naturală și contribuie la modificări legate de vârstă.

Importanța găsirii soluțiilor clinice în ceea ce privește deficiența legată de vârstă a funcționalității pielii, cauzată de factori intrinseci și extrinseci, este mare și foarte importantă. Cererea de produse anti-îmbătrânire indică o înfatuare în ideea de a părea mai tineri și de a avea o viață mai lungă. În timp ce industria estetică oferă "visuri la borcan" și promovează o multitudine de produse anti-îmbătrânire, nu există nici o confirmare cercetată științifică că oricare dintre aceste mijloace în realitate inversează sau întârzie îmbătrânirea. Majoritatea produselor de pe piață vizează doar efectul procesului de îmbătrânire, mai degrabă decât

prevenirea îmbătrânirii, însă consumatorii nu cunosc aceste diferențe, astfel este responsabilitatea noastră de a educa consumatorii să realizeze limitarea acestor produse antiaging.

Scopul acestei teze de doctorat este:

- evaluarea relației dintre foto îmbătrânire și mecanismele foto-protective
- stabilirea unor noi strategii care vizează selectiv capacitatea optimă de regenerare a pielii
- analiza capacității antioxidantilor de a proteja pielea împotriva efectelor nocive, negative ale radiației UV
- evaluarea potențialului plasmei bogate în trombocite și factorilor de creștere din compoziția sa, de a proteja tegumentul împotriva efectelor radiației UV
- cuantificarea nivelelor factorilor de creștere (TNF- $\alpha$ , TGF $\beta$ 1 și FGF2) în concentrații diferite de PRP, corespunzător diferitelor foto tipuri de piele
- de a analiza în ce fel administrarea plasmei bogate în trombocite, acționează asupra celulelor fibroblaste și a unor componente ale ECM când sunt expuse la UVB
- să îmbunătățească semnificativ înțelegerea capacității de regenerare a pielii pe baza fototipului cutanat.

## 1.1 ÎMBĂTRÂNIREA TEGUMENTULUI

Îmbătrânirea pielii este un proces complex care implică două aspecte individuale: îmbătrânirea extrinsecă și îmbătrânirea intrinsecă. Diferiți factori care influențează îmbătrânirea pielii sunt genetica, expunerea la mediu, procesele metabolice și modificările hormonale. Îmbătrânirea cronologică descrie programele noastre genetice și toate daunele care au loc pe parcursul unei vieți întregi. Îmbătrânirea intrinsecă este jucată de modificările hormonale, iar îmbătrânirea extrinsecă include expunerea la mediu care dăunează structura pielii. Chiar dacă toți acești factori acționează împreună asupra modificării structurilor dermice și epidermice, a funcției și a expresivității, radiația UV, fără îndoială, este principalul determinant defenitoriu al îmbătrânirii pielii. Rata îmbătrânirii în îmbătrânirea cronologică poate fi influențată în mare măsură

de factorii personali și de mediu, în special de expunerea la radiații UV.

Odată cu vârsta, schimbări degenerative progresive, structurale și funcționale, pot apărea. Pielea devine mai subțire, cu o capacitate limitată de rezistență mecanică. Există două tipuri definite de îmbătrânire a pielii. Cel cauzat de expresia genetică, modificările hormonale și trecerea timpului, care se numește îmbătrânire intrinsecă sau cronologică. Celălalt tip de proces de îmbătrânire se datorează factorilor de mediu și se numește îmbătrânire extrinsecă. Fototraumatismul pielii mărește semnele vizibile de îmbătrânire, deci putem spune că îmbătrânirea extrinsecă și intrinsecă sunt suprapuse.

## 1.2 TEORII DE ÎMBĂTRÂNIRE A TEGUMENTULUI

### 1.2.1 Teoria radicalilor liberi

Radicalul liber sau teoria stresului oxidativ descris inițial de Denham Harman în anii 1950 afirmă că deteriorarea celulară oxidativă acumulată de-a lungul anilor este principalul factor de contribuție la îmbătrânirea pielii. Leziunea celulară este asociată cu radicalii liberi de formare a speciilor de oxigen reactiv (ROS) indus de deteriorarea ADN-ului, inflamația, supresia imunității (7) și peroxidarea lipidelor intracelulare. Modificările acumulate în structura moleculară, în special în proteine, constituie baza îmbătrânirii celulare. Toate acestea sunt evidențiatori ai stresului oxidativ, deși schimbările de îmbătrânire nu sunt doar datorate oxidării, ci includ și alte căi spontane de eroare și modificări ale proteinelor.

Formarea ROS poate activa prematur senescenta celulară care contribuie nu numai la îmbătrânirea pielii, ci și la alte tulburări asociate vârstei. Această senescentă celulară este indusă ca răspuns protector la niveluri ridicate de specii reactive de oxygen(9). Sistemul imun Liu, J. și Lin Skin are un mecanism complex de apărare pentru a face față factorilor de mediu destructivi, însă expunerea cronică, repetitivă și excesivă la acești factori poate copleși acest sistem generând stres oxidativ și leziuni celulare.

### **1.2.2 Telomere shorting and cellular senescence**

Telomerele, secvențele repetitive de ADN prezente la punctul final al cromozomilor, sunt importante în protejarea și reglarea activităților cromozomiale. Când apare replicarea ADN-ului, în timpul diviziunii celulare, un RNA primer îl ajută să înceapă. Deoarece acest primer nu se atașează chiar la capătul benzii ADN, noua copie a firului de ADN are o secțiune finală lipsă a lanțului ADN. Prin urmare, deoarece diviziunea celulară se continuă, secțiunea finală a componentei ADN devine mai scurtă de fiecare dată când are loc dublarea. Reducerea ADN-ului telomeric inhibă diviziunea celulară. Atunci când scurtarea telomerilor atinge un nivel critic, diviziunea celulară și sinteza ADN-ului încetează să provoace senescență celulară, contribuind astfel la schimbările în ADN-ul de îmbătrânire. Stagnarea celulară este stoparea ireversibilă a creșterii celulelor mitotice individuale. Principalul mecanism al îmbătrânirii țesutului mitotic se presupune că se datorează acumulării treptate a celulelor senescente

### **1.2.3 Teoria mitocondriei**

ADN-ul mitocondrial acumulează mutații odată cu vârsta, în timp ce acestea duc la scăderea fiziologică a îmbătrânirii. Stresul oxidativ simultan joacă un rol important în distrugerea mitocondrială, deoarece declanșează mutația ADN provocată de speciile reactive de oxigen. Expunerea radiatilor UV si acumularea speciilor reactive de oxigen în timp modifică MMP și induce mutația mitocondrială a ADN-ului prin erori de codificare. Un cerc vicios începe atunci când ADN-ul mitocondrial disfuncțional împreună cu speciile reactive de oxigen duce la o producție excesivă de ROS. Astfel, putem afirma că deteriorarea cumulativă a ADN-ului este o consecință bine documentată a radiațiilor ultraviolete repetate. Factorul declanșator al îmbătrânirii pielii este dat de mitocondria disfuncțională, nu numai pe piele, ci și în alte tulburări legate de vârstă.

## **1.3 FOTO-ÎMBĂTRÂNIREA**

Foto-îmbătrânirea caracterizează modificările funcției histologice, clinice și morfologice ale pielii expuse în mod obișnuit la radiațiile UV. Ea face parte din daunele solare cronice, care sunt suprapuse cu îmbătrânirea intrinsecă sau cronologică. Îmbătrânirea datorată expunerii la soare reprezintă cele mai mari modificări nedorite ale aspectului pielii. Spre deosebire de bronzare, care relevă o creștere a producției de melanină în câteva ore sau zile, după expunerea suficientă la lumina soarelui, foto-îmbătrânirea are loc treptat pe parcursul anilor, până când devine expunere cronică la radiații UV. Toate aceste efecte sunt cauze directe și indirecte ale producției ROS. Aceste specii oxidative reactive sunt dăunătoare deoarece destabilizează alte molecule și promovează o reacție în lanț care conduce la scurtarea telomerilor, la deteriorarea ADN-ului mitocondrial și la oxidarea membranei proteinelor structurale. Distrugerea mitocondrială și răspunsul la deteriorarea telomerilor ADN sunt, de asemenea, produse de către SOR activat prin radiație UV. Produsele secundare ADN induse de

UV, conduc la mutații celulare care, în cele din urmă, conduc la fotosensibilizarea pielii. Multe studii au implicat puternic deteriorarea ADN în îmbătrânirea intrinsecă și extrinsecă

Radiația UV activează calea protein-kinazică activată de mitogen (MAPK) care stimulează activarea proteinei 1 activatoare (AP-1). Proteina 1 activator reglează expresia genei metaloproteinazei care are un efect semnificativ asupra matricei extracelulare dermice. Genele MMP induse de ROS stimulează degradarea formării de collagen și a țesutului elastic prin dezactivarea inhibitorilor de țesut natural ai MMP.

În pielea foto-îmbătrânită, gradul și profunzimea pagubelor depind de cantitatea de expunere la radiații ultraviolete

## **II.2 MODIFICARI DEGENERATIVE IN FOTO-ÎMBĂTRÂNIRE**

În pielea foto-îmbătrânită, gradul și profunzimea pagubelor depind de cantitatea de expunere la radiații ultraviolete. Cea mai remarcabilă modificare histologică a pielii este aplatizarea pronunțată a joncțiunii dermo-eidermice, care apare ca urmare a pierderii papilelor dermice și acumularea mare de material elastotic, care este rezultatul unei producții capricioase de fibrilină și elastină cu o degradarea a fibrelor elastice, în dermul superior și mijlociu.

Degradarea acestor fibre elastice provine din fibroblastele dermice și infiltrarea neutrofilelor inflamatorii ca răspuns la radiațiile UV de lumină. Există, de asemenea, o creștere semnificativă a spațiului dintre pachetele de fibre din cauza subțierii fibrelor și a creșterii haosului proteinelor din fibre și reducerii ECM.

## **II.3 MECHANISME DE APĂRARE ȘI TRATARE A FOTO ÎMBĂTRÂNIRII**

Cauza majoră a îmbătrânirii pielii este o acumulare de leziuni cauzate de stresul oxidativ, pe tot parcursul vieții, daune aduse ADN-ului și imunosupresia. Efectul terapeutic dorit anti-îmbătrânire al pielii este un proces continuu care combină diverse metode de biorevitalizare, întinerire, mărire și restaurare a straturilor individuale ale pielii. În ultimii ani au fost studiate numeroase strategii de gestionare a inversării semnelor dermice și epidermice ale îmbătrânirii pielii. Un mod principal de a depăși acest proces este prevenirea.

### **3.1 PROTECȚIA SOLARĂ**

Fotoprotecția corectă este o parte integrantă a managementului foto-îmbătrânirii. Acest lucru poate fi obținut prin reducerea la minimum a expunerii la soare în timpul orelor de vârf, de la ora 10 până la ora 16, prin căutarea umbrei, folosind îmbrăcăminte de protecție și ochelari. Loțiuni de protecție solară aplicate topic sunt o parte integrantă a strategiei de fotoprotecție. Studiile au arătat că utilizarea regulată a unor loțiuni cu protecție solară cu spectru larg de factori de protecție solară protejează împotriva foteleziunilor la nivel celular. Utilizarea de protecție solară (SPF) poate reduce semnificativ cantitatea de raze ultraviolete care ajunge la piele, reducând astfel efectele nocive ale radiațiilor solare UV asupra pielii.

### 3.2 ANTIOXIDANȚI

Când vorbim despre nevoia de a proteja pielea de daunele provocate de soare, toată lumea se gândește imediat la cremele solare, care sunt standardul de bază pentru fotoprotecție. Cu toate acestea, numeroase studii demonstrează un mecanism prin care antioxidanții joacă un rol important în prevenirea foto-îmbătrânirii prin contracararea efectelor nocive ale stresului oxidativ. Unguentele antioxidante topice apar ca o alternativă la cremele solare în prevenirea foto-îmbătrânirii și a altor tipuri de leziuni ale pielii induse de expunerea acută sau pe termen lung la soare .

S-a descoperit că un număr mare de antioxidanți prezintă efecte de protecție împotriva speciilor reactive la oxigen implicate în foto-îmbătrânire. Antioxidanți importanți precum alfa-tocoferol, ascorbat, catalază, superoxid dismutaza (SOD), resveratrol, vitamina E, carotenoide, coenzima Q10, și zinc sunt diminuate în toate straturile de piele expusă UVB. Jurkiewicz a studiat efectul a trei forme diferite de tocoferol aplicat topic asupra radiației UV induse pe șoarece. Cercetările sugerează că aceste efecte de protecție împotriva foto-îmbătrânirii induse de ROS provenite în principal din studii in vitro (124), dar nu se știe care sunt antioxidanții cei mai buni și dacă aplicarea directă sau calea orală sau combinația ambelor sunt cele mai eficiente.



Partea speciala

## **I. ANALIZA STATISTICĂ PRIVIND COMPORTAMENTUL DE EXPUNERE SOLARĂ**

Scopul principal al studiului a fost de a examina modalitatea de bronzare și de protejare împotriva radiațiilor UV a studenților la medicină, care se presupune că au un nivel educațional superior, în special pe partea medicală, comparative cu alți studenți de la alte specializări. Abordarea lor, conștientizarea și cunoașterea radiațiilor UV și eficacității modalităților de protecție solară au fost, de asemenea, testate. În același timp, s-a efectuat o analiză între studenții facultăți de medicină, din mediul rural și studenții facultăți de medicină din regiunile urbane în ceea ce privește înțelegerea acestora.

Lipsa de cunoștințe legate de expunerea la soare și protecția solară în rândul studenților din Timișoara este clară. Chiar dacă cremele pentru protecție solară au fost metoda preferată de protecție, doar participanții cu culoarea pielii mai deschisă și care au observat că sunt predispuși la arsuri solare frecvente au arătat o utilizare sporită a cremelor. Femeile cu un fototip IV și V sunt mai înclinate să se angajeze în bronzarea artificială intenționată pentru o perioadă mai lungă de timp și să nu utilizeze protecție solară.

Astfel, oamenii din această zonă trebuie să fie mai educați cu privire la factorii de risc și metodele de protecție solară. Campaniile educaționale ar trebui promovate pentru a sublinia importanța căilor de protecție împotriva soarelui pentru a schimba și a îmbunătăți calitatea și cantitatea vieții oamenilor, în special pentru cei care prezintă un risc mai mare, femeile și cei cu fototipul de piele mai deschis la culoare.

În cele din urmă, pe baza dovezilor, se poate presupune că bunul simț este cel mai important instrument atunci când vine vorba de expunerea la soare și protecția împotriva soarelui. Este, cu siguranță, clar efectul utilizării regulate al protecției solare și a altor măsuri de protecție împotriva soarelui contra cancerelor cutanate și a îmbătrânirii pielii.

## **II. EFICACITATEA ANTIOXIDANTĂ ÎN PROCESUL DE FOTOÎMBĂTRÂNIRE A PIELII**

Scopul acestui studiu este acela de a aprecia valoarea efectului combinației dintre enzima superoxid dismutază, catalază și seleniu în procesul de fotoîmbătrânire a pielii. În cadrul acestui studiu au fost incluse treizeci de pacienți cu tipuri de piele II, III și IV (conform sistemului Fitzpatrick). Au fost împărțite în trei grupe: participantelor din prima grupă li s-a administrat în mod sistematic o combinație de enzime antioxidante, celor din a doua grupă li s-a administrat aceeași combinație, acestea au trebuit însă să folosească în timpul studiului diferite metode de bronzare, iar celor din a treia grupă li s-a administrat o combinație de superoxid dismutază, catalază și seleniu doar zonelor expuse la soare. Pe parcursul acestui studiu a fost evaluată capacitatea antioxidantă a sângelui fiecărei participante, precum și modificările clinice și histologice care au apărut în această perioadă.

Îmbătrânirea iminentă este un proces de dezintegrare subtil cu un rezultat final iminent. Fotoîmbătrânirea reprezintă un factor direct al mediului înconjurător, care nu poate fi nici

așumat, nici evitat. Acest mecanism distructiv reprezintă un proces cumulativ, influențat de gradul de expunere la razele UV și de tipul de piele de care avem nevoie, întrucât, până la un anumit nivel, îl putem preveni. Studiile au arătat că administrarea sistematică a antioxidantelor poate asigura o protecție fotografică și o întârziere sau chiar prevenire, într-o oarecare măsură, împotriva fotoîmbătrânirii. În cadrul studiului nostru, am observat mici dar semnificative modificări pe care nu le putem omite. După o perioadă de șase luni am putut demonstra cât se poate de clar beneficiile folosirii în mod sistematic al antioxidantilor enzimatici. S-a putut observa, în cadrul grupelor de studiu care au fost tratate, o îmbunătățire clinică: o piele mai netedă și o toleranță mai bună la expunerea la soare.

Datorită faptului că fiecare se așteaptă la o durată de viață extinsă, procesul de fotoîmbătrânire va reprezenta în viitor un motiv de îngrijorare și totodată de mare interes. Este esențial să oferim informații cu privire la efectele radierii cu raze ultraviolete și să obținem un echilibru între efectele benefice și dăunătoare ale acestora.

### **III. EVALUAREA *IN VITRO* A ROLULUI DE FOTOPROTECTIE A PRP SI A ANTIOXIDANTILOR ORALI ASUPRA FIBROBLASTELOR UMANE**

Scopul studiului a fost aceea de a analiza în ce măsură administrarea de PRP (obținut de la voluntari sănătoși și de la voluntari care au consumat în prealabil preparate antioxidante), acționează asupra fibroblastelor și a unor componente ale matricei extracelulare, în cazul expunerii la UVB. Pentru aceasta, am realizat două loturi experimentale, utilizând fibroblate umane în cultura *in vitro*. S-a urmărit astfel, aprecierea potențialului terapeutic al PRP (lot PRP) comparativ cu PRP-ul obținut de la persoanele care și-au administrat exogen suplimente cu antioxidanți (lot PRP-O). Celulele au fost tratate cu diferite concentrații de PRP și PRP-O, ulterior fiind expuse la UVB. În paralel s-au folosit loturi martor neexpuse la UV. La diferite perioade de timp (24h, 48h și respectiv 72h), am analizat efectul PRP asupra fenotipului celular, proliferării celulare, precum și asupra factorului de transcripție NFκB și a sintezei colagenului tip 1, metaloproteinazelor matriciale MMP1 și MMP3. De asemenea, am analizat comparativ capacitatea antioxidantă a celor două tipuri de PRP.

În studiul nostru nu am găsit următoarele:

✚ Pentru fiecare comparație referitoare la cele 4 concentrații studiate, s-au observat diferențe statistice semnificative ( $p < .05$ ). În cazul fiecărei concentrații, activitatea antioxidantă (DPPH) a fost mai crescută pentru grupul experimental. De asemenea, la fiecare creștere a concentrației C1, C2, C3, C4, DPPD devine mai mare.

✚ Cu excepția diferenței C1 la 24 de ore dintre grupul experimental și PRP vs PRP-O și C3 la 24 de ore dintre grupul experimental și control, toate analizele au prezentat rezultate semnificative, însemnând că per ansamblu există diferențe semnificative în ceea ce privește activitate proliferativă între grupul experimental (PRP) și control (PRP-O) și martor pentru fiecare dintre cele 3 măsurători de timp (24 de ore parțial) și pentru fiecare concentrație.

✚ Cu excepția concentrației C1, majoritatea analizelor au indicat diferențe nesemnificative între PRP vs PRP-O. Deși în unele concentrații și la unele ore s-au identificat diferențe semnificative,

acestea sunt cazuri izolate și per ansamblu nu s-a identificat un efect semnificativ. În majoritatea analizelor a apărut diferențe între PRP-O și grupele martor.

✚ Cu excepția concentrației C1 la 24 de ore, analizeze nu indică diferențe semnificative între grupa PRP și PRP-O. Între PRP-O și martor 1 în afară de C4 toate analizele au identificat diferențe semnificative.

✚ Valorile metaloproteinazelor matriciale MMP1 și MMP3, au fost crescute în mediul de cultură al celulelor expuse la UVB, dar care nu au fost incubate cu PRP sau PRP-O (M2). La loturile experimentale, valorile acestor markeri au fost semnificativ scăzute comparativ comparativ cu M2. În același timp, am observat că MMP1 și MMP3 au avut valori similare martorului M1, ne-expus la UVB, ceea ce sugerează rolul important al factorilor de creștere conținuți de PRP, asupra componentelor matricei extracelulare. Antioxidanții administrați oral nu au avut o influență semnificativă asupra expresiei metaloproteinazelor studiate.

#### **IV. ACTIVAREA BIOLOGICĂ A CITOKINELOR PENTRU A DETERMINA CONCENTRAȚIA DE TNF- $\alpha$ , TGF ȘI PDGF ÎN DIFERITE FOTOTIPURI ALE PIELII**

Acest studiu a fost realizat pentru a compara nivelele de factor de creștere obținute din concentratul PRP de la subiecți cu diferite fototipuri de piele: II, III și IV Fitzpatrick. Sângele integral proaspăt a fost extras de la 20 de donatori sănătoși, cu vârsta cuprinsă între 19 și 42 de ani. Plasma a fost separată prin tehnica dublei rotiri, deoarece rezultă o concentrație mai mare de trombocite, activată cu citrat de sodiu de 3,2% în tub de plastic din polipropilenă. Concentratul de trombocite a fost evaluat cu ajutorul testului imunosorbant legat de enzime (ELISA).

În studiul nostru nu am găsit o corelație semnificativă între numărul de celule albe din sânge, trombocite și nivelul citokinelor studiate. De asemenea, concentrațiile de TNF $\alpha$ , TGF $\beta$  și FGF2 au fost relativ aceleași pentru toate cele trei fototipuri de piele studiate. Nivelurile TGF $\beta$  și FGF2 sunt determinate de procedura de achiziție și nu depind de numărul de trombocite. Unele studii au raportat valori care ar putea fi măsurate în ng / ml (21), totuși în studiul nostru valorile obținute, indiferent de tipul de piele, au fost mult mai mici. Rezultate similare au fost raportate, de asemenea, în studiul lui Pochini și colab. Valorile obținute pentru FGF2 au fost similare cu cele din alte studii similare, fiind nedetectabile sau foarte scăzute.

Am demonstrat că factorii activi în produsul PRP nu depind de fototipul pielii la niveluri similare cu alte studii, sugerând că și alți factori în timp contribuie la dezechilibrul acelor citokine care reflectă îmbătrânirea pielii sau chiar afecțiunile patologice.