



UNIVERSITATEA TRANSILVANIA DIN BRAȘOV

TEZĂ DE ABILITARE

**Titlu: ASPECTE DE INTERDISCIPLINARITATE ȘI
MEDICINĂ INTEGRATIVĂ ÎN DIAGNOSTICUL ȘI
TERAPIA INFECȚIILOR CUTANEO-MUCOASE**

Domeniu: Medicină

Autor:

Conf. dr. med. Marius IRIMIE

Brașov, 2024

Cuprins

| | |
|---|-----|
| Lista de abrevieri | 2 |
| (A) Rezumat/ Summary | 3 |
| (B) Realizări științifice și profesionale, planuri de evoluție și dezvoltare a carierei | 15 |
| (B-i) Realizări științifice și profesionale..... | 15 |
| Capitolul 1. Principalele domenii de cercetare-dezvoltare și rezultatele cercetării | 16 |
| 1.1. Cercetări privind diagnosticul și tratamentul infecțiilor cutaneomucoase | 16 |
| 1.1.1. Infecțiile dermatofitice la indivizii imunocompromiși | 16 |
| 1.1.2. Infecții cu transmitere sexuală | 31 |
| 1.2. Rezultatele cercetării în domenii interdisciplinare..... | 57 |
| 1.2.1. Factorii de risc cardiovasculari la pacienții cu psoriazis cronic în plăci | 58 |
| 1.2.2. Factorii de risc cardiovasculari la pacienții cu rozacee..... | 67 |
| 1.2.3. Proteina C-reactivă și T3: noi factori de prognostic în accidentul vascular cerebral ischemic acut 77 | |
| 1.3. Rezultatele cercetării în domeniul medicinei integrative..... | 87 |
| Capitolul 2. Evoluție și dezvoltare profesională..... | 123 |
| 2.1. Dezvoltarea carierei profesionale | 123 |
| 2.2 Teza de doctorat și alte proiecte de cercetare | 125 |
| 2.3 Recunoașterea națională și internațională | 127 |
| 2.4 Experiența de management și conducere..... | 129 |
| (B-ii) Planuri de evoluție și dezvoltare a carierei..... | 132 |
| 1. Plan de dezvoltare a carierei profesionale | 132 |
| 2. Plan de dezvoltare a activității didactice | 133 |
| 3. Plan de dezvoltare pentru activitatea de cercetare..... | 134 |
| (B-iii) Bibliografie..... | 138 |

Lista de abrevieri

| | |
|--|--|
| AUROC - aria de sub curba ROC | ITS - infecții cu transmitere sexuală |
| AVC - accident vascular cerebral | ITZ - itraconazol |
| AVCI - accident vascular cerebral ischemic | KTZ - ketoconazol |
| BCR - boală cronică de rinichi | LH - hormonul luteinizant |
| BCV - boli cardiovasculare | L-NAME - N-Nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride |
| BLIs - inhibitori ai β -lactamazei | LR-HPV - virusul papiloma uman cu risc scăzut |
| CAT - catalaza | LVH - hipertrofie ventriculară stângă |
| CC - cancer de col uterin | MDA - malondialdehydă |
| CCB - blocant al canalelor de calciu | MMSE - Mini-Mental State Examination |
| CK - creatinin kinaza | mRS - Scala Rankin modificată |
| CMI - concentrația minimă inhibitorie | MRSA - Staphylococcus aureus rezistent la meticilină |
| CP - cisplatină | NIHSS - National Institutes of Health Stroke Scale |
| CRP - proteina C reactivă | NO - oxid nitric |
| CT - tomografie computerizată | NUG - uretrite non-gonococice |
| DZ - diabetul zaharat | PCR RT - polymerase chain reaction real time |
| EDRF - factor de relaxare derivat din endoteliu | ROS - specii reactive de oxigen |
| ESBL - Extended-Spectrum beta-lactamaze | SD - deviația standard |
| FLZ - fluconazol | SM - sindromul metabolic |
| FRS - scorul de risc Framingham | SOD - superoxid dismutaza |
| FSH - hormonul de stimulare foliculară | TBF - terbinafină |
| GPx - glutathion peroxidaza | TC - colesterol total |
| HOMA-IR - Homeostasis Model Assessment of Insulin-Resistance | TSH - hormon de stimulare tiroidiană |
| HPLC - cromatografie lichidă de înaltă performanță | UG - uretrite gonococice |
| HPV - virusul papiloma uman | VCZ - voriconazol |
| HPT - ax hipotalamo-hipofizo-tiroidian | VISA - Vancomicin-Staphylococcus aureus intermediar |
| HR-HPV - virusul papiloma uman cu risc ridicat | VIT - vitexină |
| HTA - hipertensiunea arterială | VRE - enterococi rezistenți la vancomicină |
| HSV - virusul herpes simplex | |
| IMA - infarct miocardic acut | |
| IMID - boală inflamatorie mediată imun | |
| IRC - insuficiență renală cronică | |

(A) Rezumat/ Summary

Summary

The habilitation thesis "ASPECTS OF INTERDISCIPLINARY AND INTEGRATIVE MEDICINE IN THE DIAGNOSIS AND THERAPY OF MUCOCUTANEOUS INFECTIONS" includes my scientific, professional and academic achievements after obtaining the title of Doctor of Medical Sciences and personal plans for further career development. Qualification in the field of medicine represents the achievement of the highest level of professional, academic and scientific training.

The **first section** of the habilitation thesis includes the main results of my professional, academic and research activity, in close correlation with the level of knowledge in the research fields at the time, the most important scientific contributions in the field of dermatovenerology with a focus on cutaneous infections being mentioned, approached both from the classical point of view and from the point of view of interdisciplinarity and integrative medicine.

In **chapter 1**, the main results of the scientific research are presented, systematized according to the respective research fields: dermatophyte infections of the skin, sexually transmitted infections, interdisciplinarity and integrative medicine, and other research fields are also briefly mentioned at the end.

The first area of research was that of skin infections with dermatophytic fungi. Considerable changes have been registered in the last century regarding the etiological spectrum of dermatophyte infections. Contributing factors such as population migration, industrialization, population aging or the increase in the incidence of conditions such as diabetes mellitus, neoplasia, HIV infection, circulatory disorders, or antibiotic and immunosuppressive therapies have influenced the epidemiological profile of dermatophyte infections.

Although fungal infections do not cause epidemics or pandemics, their incidence has increased significantly, especially due to the increase in the number of patients with compromised immune systems. Dermatophytic infections in immunocompromised patients are much more varied and often

refractory to treatment, more severe than in immunocompetent subjects. Many pathogens that normally produce localized, self-limiting skin infections can have high morbidity and mortality in immunocompromised individuals. In these immunocompromised patients, the correctness and precocity of the diagnosis becomes essential for epidemiological purposes and for the establishment of a correct treatment.

This field of skin infections with dermatophyte fungi has concerned me since the beginning of my professional and scientific career. In this context, the doctoral thesis was also developed: *Clinical and laboratory research in human skin diseases produced by filamentous keratinophilic fungi in immunocompromised patients*, the published book entitled *Cutaneous Mycoses*. Moreover, most of the research activity and scientific works published at national and international level in journals with high scientific visibility, have addressed this interesting topic of dermatophytic infections in immunocompromised patients (neoplastic, with end-stage chronic renal disease, with decompensated diabetes, etc.). Dermatophytic infections in immunocompromised patients are often disseminated, asymptomatic and refractory to treatment. In this context, the accuracy and timeliness of the diagnosis become essential for epidemiological purposes and for the establishment of an appropriate treatment, and susceptibility testing is mandatory.

The **second area of research** is that of sexually transmitted infections, which continue to represent a global public health problem. A recrudescence of sexually transmitted infections has been observed in recent decades. This increase reflects on the one hand an improvement in detection, especially for genital infection with chlamydia, and on the other hand a deterioration of the healthcare infrastructure. However, the major factor in the increase is most likely the change in sexual behavior: the age of the onset of sexual life has decreased, the period of experimentation and changing partners has lengthened. An increase in the incidence of gonorrhoea among gay men has also been observed in association with increasing antibiotic resistance. Given that gonococci have acquired resistance to all antibiotics used to treat gonococcal infection in the 1970s and 1980s, it is necessary that research should not be focused exclusively on newer derivatives of previously used antibiotics, but specifically on antimicrobial substances new ones that act through different mechanisms.

Sexually transmitted infections can be prevented and controlled by three basic strategies: reducing the risk of transmission in any type of sexual contact (use of condoms), reducing the rate of changing sexual partners, and reducing the period of infectiousness. Control programs have emphasized the first two strategies, especially after the outbreak of the HIV epidemic. New opportunities to control sexually transmitted infections come from strategies that will reduce the infectious period of patients through more accessible services, through screening of the patient's sexual contacts, through partner notification, through simplified single-dose therapies to improve treatment compliance. In this sense, we carried out the studies that addressed sexually transmitted infections as a theme.

As a result of the numerous studies that demonstrated the causal relationship between HPV infection and cervical cancer, and as Romania ranks first in Europe in terms of the incidence of cervical cancer, we conducted a study to evaluate the rate of genital infection with HPV, of the prevalence of HPV genotypes and establishing correlations with abnormal cervical cytology among the female population of Braşov county, which allowed us to develop guidelines for the evaluation of patients at risk, especially in women over 30 years old.

Another important area of research has been related to the interdisciplinary aspects generated by the complex, still incompletely elucidated interrelationships between some chronic inflammatory skin conditions and the increased incidence of traditional cardiovascular risk factors. The skin is an interdisciplinary organ, many of the cutaneous diseases can have systemic manifestations, and on the other hand, the skin-mucosal manifestations can be an important marker for a diverse range of systemic diseases. In recent years, several inflammatory skin conditions, the most studied being psoriasis, are no longer regarded as a simple skin condition but rather as systemic inflammatory conditions that associate an excess of metabolic dysfunctions and cardiovascular risk factors. It seems that most of the time systemic inflammation and oxidative stress are the ones that underlie the relationship between inflammatory skin diseases and cardiovascular diseases. Patients with inflammatory skin diseases should be proactively assessed for cardiovascular disease risk and comorbidities should be actively managed.

In the **fourth field of research**, we approached aspects of integrative medicine, namely studies that analyzed various natural extracts, covering two large fields with potential applicability in dermatological pathology or their comorbidities. Some have been studied for their antioxidant activity, reducing the oxidative stress underlying the systemic inflammation in chronic inflammatory skin conditions (psoriasis, rosacea, etc.), and others for their antimicrobial action, being seen as a viable alternative to current antibiotics, in the context of which are increasingly becoming ineffective, as in the case of gonococcal infection, and a premise for the development of new effective antibiotics. In this sense, as a result of the collaboration in multinational research collectives, numerous works have been developed that have been published in established scientific journals with a high impact factor.

Chapter 2 summarizes my professional and academic achievements. In 2002, I graduated the Faculty of Medicine of the Transilvania University of Braşov. In the same year, after passing the national residency exam, I became a resident doctor in dermato-venerology. As a result of specialized training and taking specific exams, in 2007 I obtained the qualification of specialist doctor (confirmation by Order of the Minister of Health no. 2140/2007), and later in 2012 that of primary doctor in dermato-venerology (Order of the Minister of Health no. 848/2012).

My academic career began in 2003 as assistant at the Faculty of Medicine of Transilvania University of Braşov. In 2014, I was promoted through a competition as lecturer, and in 2017, as a recognition of the quality of my teaching and scientific activity, I became associate professor.

Starting in 2018, I was appointed as the coordinator of dermatovenerology residents at the Braşov University Center. In 2017, as a member of the specialized commission of the Ministry of Health, I contributed to the realization of the training curriculum in the dermatovenerology.

Ability to coordinate research and professional teams is proven by the fact that, starting from 2016, I hold for the third consecutive term the position of director of the Medical and Surgical Specialties department, and that of coordinator of the department's research center: RESEARCH CENTER IN APPLIED MEDICINE AND INTERVENTIONAL STRATEGIES IN MEDICAL PRACTICE (AMISMP).

Membership as a member of international and national scientific societies also contributes to the international recognition of my activity: European Academy of Dermato-Venereology, Romanian Society of Dermatology, Romanian Society of Dermato-oncology, Association of Transilvania

Dermatologists, Association of Dermatologists from Moldova, Balkan Medical Union. The membership of these professional associations allowed me to be a collaborator in the organization of several scientific events over time, and to constantly participate in the conferences organized by these associations, presenting scientific papers at most of them.

Over time, I have demonstrated the ability to work in research teams by collaborating with colleagues in the country in research projects. From the first years of my professional activity, I participated as an investigator or co-investigator in numerous clinical trials, a fact that helped me in the formation of management and research ethics skills.

The results of these research projects have materialized in the numerous articles published in collaboration with brand specialists from home and abroad, in magazines with a high impact factor and communications at national and international congresses and conferences. Synthesizing the results obtained in all research fields comprising over 130 full-length articles of which 17 published in ISI-listed journals (FCIAP - 33,386) and having 162 citations with a Hirsch index of 9.

The **second part** of the habilitation thesis is dedicated to career development and development plans. My own plans for professional development and evolution are based on my previous teaching and professional activity, and obtaining the recognition of the right to coordinate doctoral theses represents a new stage in my future professional and scientific activity. In the future, I consider it a priority to combine teaching activity with research activity and clinical activity, as these three indispensable pillars of professional excellence work together to create a successful professional identity. Medical professional development includes professional competence, professional identity and good teaching skills. I tried to guide my future development plan by looking deeply inside my personal aspirations, strengths, values, priorities, current roles and personal and departmental priorities.

The research development plan will continue to focus on the main lines of my research activity that I have been involved in so far, that of dermatological pathology in general, and that of infectious and inflammatory dermatoses in particular. In addition, following the research results of recent years, two new directions have emerged, that of interdisciplinary medicine and that of integrative medicine.

Future scientific research will include studies starting from several innovative research ideas in dermatology that explore both emerging technologies and untapped areas of skin health:

- research to develop new bioactive compounds and nanotechnologies to improve sun protection, reduce premature aging and prevent skin cancer.
- development of personalized treatments based on genetic analysis and skin microbiome for skin conditions such as acne, atopic dermatitis or skin cancer.
- using artificial intelligence and machine learning algorithms to improve diagnosis of skin diseases such as melanoma through automated analysis of dermatoscopic images.
- testing the use of stem cells to treat scars, severe burns and degenerative skin conditions such as psoriasis or vitiligo.

These ideas reflect current and future trends in dermatology, with a focus on innovation, customization and cutting-edge technologies.

Rezumat

Teza de abilitare „ASPECTE DE INTERDISCIPLINARITATE ȘI MEDICINĂ INTEGRATIVĂ ÎN DIAGNOSTICUL ȘI TERAPIA INFECȚIILOR CUTANEO-MUCOASE” include realizările mele științifice, profesionale și academice după obținerea titlului de doctor în științe medicale și, de asemenea, planurile personale de dezvoltare ulterioară a carierei. Abilitarea în domeniul medicinei reprezintă atingerea celui mai înalt nivel de pregătire profesională, academică și științifică.

Prima secțiune a tezei de abilitare cuprinde principalele rezultate ale activității mele profesionale, academice și de cercetare, în strânsă corelație cu nivelul de cunoștințe în domeniile de cercetare din momentul respectiv fiind menționate cele mai importante contribuții științifice din domeniul dermatovenerologiei cu axare pe infecțiile cutaneo-mucoase, abordate atât din punct de vedere clasic cât și din cel al interdisciplinarității și al medicinei integrative.

Capitolul 1 prezintă principalele rezultate ale cercetării științifice sistematizate pe domeniile de cercetare respectiv: infecții dermatofitice cutanate, infecții cu transmitere sexuală, interdisciplinaritate și medicina integrativă fiind în final amintite sumar și alte domenii de cercetare.

Primul domeniu de cercetare a fost cel al infecțiilor cutanate cu fungi dermatofiți. În ultimul secol au fost înregistrate schimbări considerabile în ceea ce privește spectrul etiologic al infecțiilor dermatofitice. Factori favorizanți precum migrarea populației, industrializarea, îmbătrânirea populației sau creșterea incidenței unor afecțiuni precum diabetul zaharat, neoplaziile, infecția HIV, tulburările circulatorii, sau terapiile antibiotice și imunosupresoare au influențat profilul epidemiologic al infecțiilor dermatofitice. Cu toate că infecțiile fungice nu produc epidemii sau pandemii, incidența acestora a crescut semnificativ, îndeosebi datorită creșterii numărului pacienților cu sistemul imun compromis. Infecțiile dermatofitice la pacienții imunocompromiși sunt mult mai variate și adesea refractare la tratament, mai severe decât la subiecții imunocompetenți. Mulți agenți patogeni care în mod normal produc infecții cutanate localizate, autolimitante, pot avea o morbiditate și o mortalitate ridicate la indivizii imunocompromiși. La acești pacienți imunocompromiși corectitudinea și precocitatea diagnosticului devine esențială în scop epidemiologic și pentru instituirea unui tratament corect.

Acest domeniu al infecțiilor cutanate cu fungi dermatofiți m-a preocupat încă de la începutul carierei mele profesionale și științifice. În acest context a fost elaborată și teza de doctorat: Cercetări clinice și de laborator în afecțiunile cutanate umane produse de ciuperci keratinofile filamentate la pacienții imunocompromiși, cartea publicată intitulată Micozele cutanate. Mai mult, cea mai mare parte a activității de cercetare și a lucrărilor științifice publicate la nivel național și internațional în reviste cu vizibilitate științifică ridicată, au abordat acest subiect de interes, al infecțiilor dermatofitice la pacienți imunocompromiși (neoplazici, cu boală renală cronică terminală, cu diabet zaharat decompensat, etc). Infecțiile dermatofitice la pacienții imunocompromiși sunt adesea diseminate, asimptomatice și refractare la tratament. În acest context, acuratețea și precocitatea diagnosticului devin esențiale în scopuri epidemiologice și pentru stabilirea unui tratament adecvat, iar testarea sensibilității este obligatorie.

Al doilea domeniu de cercetare este cel al infecțiilor cu transmitere sexuală care continuă să reprezinte și în prezent o problemă de sănătate publică la nivel global. În ultimele decade s-a observat o recrudescență a infecțiilor cu transmitere sexuală. Această creștere reflectă pe de o parte o îmbunătățire a detecției, în special pentru infecția genitală cu chlamydia și pe de altă parte o deteriorare a infrastructurii de asistență medicală. Cu toate acestea, factorul major de creștere este cel mai probabil schimbarea comportamentului sexual: scăderea vârstei debutului vieții sexuale, perioada de experimentare și schimbare a partenerilor s-a prelungit. A fost observată și o creștere a incidenței gonoreei în rândul bărbaților homosexuali în asociere cu creșterea rezistenței la antibiotice. În condițiile în care gonococul a dobândit rezistența la toate antibioticele utilizate pentru tratamentul infecției gonococice în anii 1970-1980, este absolut necesar ca cercetările să nu se axeze exclusiv numai asupra unor derivați mai noi ai unor antibiotice utilizate anterior, ci în special pe substanțe antimicrobiene noi care să acționeze prin mecanisme diferite.

Infecțiile cu transmitere sexuală pot fi prevenite și controlate prin trei strategii de bază: reducerea riscului de transmitere în orice tip de contact sexual (folosirea prezervativelor), reducerea ratei de schimbare a partenerului sexual și reducerea perioadei de infecțiozitate. Programele de control au pus accent pe primele două strategii, îndeosebi după declanșarea epidemiei de infecție cu HIV. Noi oportunități de control al infecțiilor cu transmitere sexuală provin din strategii care vor reduce perioada

de infecțiozitate a pacienților prin servicii mai accesibile, prin screening la contactii sexuali ai bolnavului, prin notificarea partenerului, prin terapii simplificate în doză unică pentru îmbunătățirea complianței la tratament. În acest sens am realizat studiile care au abordat ca temă infecțiile cu transmitere sexuală.

Ca urmare a numeroaselor studii care au demonstrat relația cauzală dintre infecția cu HPV și cancerului de col uterin, și cum România se află pe primul loc în Europa în ceea ce privește incidența cancerului de col uterin, am efectuat un studiu de evaluare a ratei infecției genitale cu HPV, a prevalenței genotipurilor HPV și de stabilire de corelații cu citologia cervicală anormală în rândul populației feminine din județul Brașov, care ne-a permis să elaborăm linii directoare pentru evaluarea pacienților cu risc, în special la femeile peste 30 de ani.

Un alt domeniu de cercetare important a fost legat de aspectele de interdisciplinaritate generate de interrelațiile complexe, încă incomplet elucidate, dintre unele afecțiuni cutanate inflamatorii cronice și incidența crescută a factorilor de risc cardiovasculari tradiționali. Pielea este un organ interdisciplinar, multe dintre bolile cutaneomucoase putând avea manifestări sistemice, iar pe de altă parte manifestările cutaneomucoase putând constitui un marker important pentru o gamă diversă de afecțiuni sistemice. În ultimii ani mai multe afecțiuni inflamatorii cutanate, cel mai studiat fiind psoriazisul, nu mai sunt privite doar ca o simplă afecțiune cutanată ci mai degrabă ca afecțiuni inflamatorii sistemice care asociază un exces de disfuncții metabolice și factori de risc cardiovasculari. Se pare că de cele mai multe ori inflamația sistemică și stresul oxidativ sunt cele care stau la baza relației dintre bolile inflamatorii cutanate și afecțiunile cardio-vasculare. Pacienții cu boli inflamatorii cutanate trebuie evaluați proactiv pentru riscul de boli cardiovasculare, iar comorbiditățile trebuie gestionate activ.

În cadrul celui de al patrulea domeniu de cercetare, am abordat aspecte de medicină integrativă, respectiv studii care au analizat diverse extracte naturale, acoperind două mari domenii având potențială aplicabilitate în cadrul patologiei dermatologie sau a comorbidităților acestora. Unii au fost studiați pentru activitatea lor antioxidantă reducând stresul oxidativ ce stă la baza inflamației sistemice din afecțiunile inflamatorii cutanate cronice (psoriazis, rozacee, etc), iar alții pentru acțiunea lor antimicrobiană, fiind priviți ca o alternativă viabilă a antibioticelor actuale, în contextul în care tot mai multe devin ineficiente cum este cazul infecției gonococice, și o premiză pentru dezvoltarea de noi

antibiotice eficiente. În acest sens, ca urmare a colaborării în colective de cercetare internaționale, au fost elaborate numeroase lucrări care au fost publicate în jurnale științifice consacrate cu factor de impact ridicat.

În **capitolul 2** sunt sintetizate realizările mele profesionale și academice. În anul 2002 am absolvit ca șef de promoție Facultatea de Medicină din cadrul Universității Transilvania din Brașov. În același an, în urma susținerii examenului național de rezidențiat am devenit medic rezident în specialitatea dermato-venerologie. Ca urmare a pregătirii de specialitate și susținerii examenelor specifice, în 2007 am obținut calificarea de medic specialist (confirmare prin Ordinul Ministrului Sănătății nr. 2140/2007), pentru ca ulterior în 2012 pe cea de medic primar în dermato-venerologie (Ordinul Ministrului Sănătății nr. 848/2012).

Carierea mea academică a început în anul 2003 ca preparator universitar la Facultatea de Medicină a Universității Transilvania din Brașov. În anul 2014 am promovat prin concurs ca șef de lucrări, iar în 2017, ca o recunoaștere a calității activității mele didactice și științifice, am devenit conferențiar universitar.

Începând cu anul 2018 am fost numit în calitate de coordonator al rezidenților de dermatovenerologie din centrul universitar Brașov. În anul 2017 în calitate de membru al comisiei de specialitate a Ministerului Sănătății am contribuit la realizarea curriculumului de pregătire în specialitatea dermatovenerologie.

Capacitatea de coordonare a echipelor de cercetare și profesionale este argumentată prin faptul că începând din anul 2016 ocup pentru al treilea mandat consecutiv funcția de director al departamentului Specialități Medicale și Chirurgicale, și pe cea de coordonator al centrului de cercetare al departamentului: CENTRUL DE CERCETARE ÎN MEDICINĂ APLICATĂ ȘI STRATEGII INTERVENȚIONALE ÎN PRACTICA MEDICALĂ (AMISMP).

La recunoașterea internațională a activității mele contribuie și apartenența ca membru în societăți științifice internaționale și naționale: European Academy of Dermato-Venereology, Societatea Română de Dermatologie, Societatea Română de Dermato-oncologie, Asociația Dermatologilor Transilvani, Asociația Dermatologilor din Moldova, Uniunea Medicală Balcanică. Apartenența la aceste asociații profesionale mi-a permis să fiu colaborator la organizarea mai multor evenimente științifice în

decursul timpului, și participarea în mod constant la conferințele organizate de aceste asociații, la majoritatea prezentând lucrări științifice.

În decursul timpului am demonstrat capacitatea de a lucra în echipe de cercetare colaborând cu colegii din țară în cadrul unor proiecte de cercetare. Încă din primii ani de activitate profesională am participat ca investigator sau co-investigator la numeroase trialuri clinice fapt ce m-a ajutat în formarea deprinderilor de management și de etică ale cercetării.

Rezultatele acestor proiecte de cercetare s-au concretizat în numeroasele articole publicate în colaborare cu specialiști de marcă din țară și străinătate, în reviste cu factor de impact ridicat și comunicări la congrese și conferințe naționale și internaționale. Sintetizând rezultatele obținute în toate domeniile de cercetare cuprinzând peste 130 de articole publicate în extenso dintre care 17 publicate în reviste cotate ISI (FCIAP - 33,386) și având 162 citări cu H-Index de 9.

A doua parte a tezei de abilitare este dedicată planurilor de evoluție și dezvoltare a carierei. Planurile proprii de dezvoltare și evoluție profesională se bazează pe activitățile mele didactice și profesionale anterioare, iar obținerea recunoașterii dreptului de coordonare a tezelor de doctorat reprezintă o nouă etapă în viitoarea activitate profesională și științifică. Pe viitor, consider că este o prioritate îmbinarea activității didactice cu activitatea de cercetare și activitatea clinică, întrucât acești trei piloni indispensabili ai excelenței profesionale lucrează împreună pentru a crea o identitate profesională de succes. Dezvoltarea profesională medicală include competență profesională, identitate profesională și bune abilități de predare. Am încercat să-mi ghidez viitorul plan de dezvoltare după o privire profundă în interiorul aspirațiilor personale, punctelor forte, valorilor, priorităților, rolurilor actuale și priorităților personale și ale departamentului.

Planul de dezvoltare a activității de cercetare va fi axat în continuare pe principalele linii directoare ale activității mele de cercetare în care am fost implicat până în prezent, cel al patologiei dermatologice în general, și cel al dermatozelor infecțioase și inflamatorii în mod particular. În plus, în urma rezultatelor cercetărilor din ultimii ani s-au conturat două noi direcții, cea a medicinei interdisciplinare și cea a medicinei integrative.

În cadrul cercetărilor științifice viitoare se vor regăsi studii plecând de la câteva idei novatoare de cercetare în dermatologie care explorează atât tehnologiile emergente, cât și domeniile neexploatate ale sănătății pielii:

- Studii pentru dezvoltarea unor noi compușilor bioactivi și a nanotehnologiilor pentru îmbunătățirea protecției solare, reducerea îmbătrânirii premature și prevenirea cancerului de piele.
- Dezvoltarea tratamentelor personalizate bazate pe analiza genetică și microbiomul pielii pentru afecțiuni cutanate precum acneea, dermatita atopică sau cancerul de piele.
- Folosirea inteligenței artificiale și a algoritmilor de învățare automată pentru a îmbunătăți diagnosticul bolilor cutanate, precum melanomul, prin analiza automată a imaginilor dermatoscopice.
- Investigarea utilizării celulelor stem pentru tratarea cicatricilor, arsurilor severe și afecțiunilor degenerative ale pielii, precum psoriazisul sau vitiligo.

Aceste idei reflectă tendințele actuale și viitoare din dermatologie, cu un accent pe inovație, personalizare și tehnologii de vârf.

**(B) Realizări științifice și profesionale, planuri
de evoluție și dezvoltare a carierei**

(B-i) Realizări științifice și profesionale

Capitolul 1. Principalele domenii de cercetare-dezvoltare și rezultatele cercetării

1.1. Cercetări privind diagnosticul și tratamentul infecțiilor cutaneomucoase

1.1.1. Infecțiile dermatofitice la indivizii imunocompromiși

În ultimul secol au fost înregistrate schimbări considerabile în ceea ce privește spectrul etiologic al infecțiilor dermatofitice. Factori favorizanți precum migrarea populației, industrializarea, îmbătrânirea populației sau creșterea incidenței unor afecțiuni precum diabetul zaharat (Irimie, et al., 2010), neoplaziile, infecția HIV, tulburările circulatorii, sau terapiile antibiotice și imunosupresoare au influențat profilul epidemiologic al infecțiilor dermatofitice. Profilaxia antifungică și tratamentele empirice au condus la apariția unor modificări epidemiologice importante precum dezvoltarea unor tulpini dermatofitice cu rezistență secundară la antifungice și înlocuirea unor specii dermatofitice sensibile cu altele cu rezistență intrinsecă (Roberts DT, et al, 2003).

Infecțiile dermatofitice pot fi recurente sau cronice (îndeosebi cele unghiale) și în general necesită tratamente antimicotice de lungă durată. Infecțiile dermatofitice recidivante sunt secundare fie unei complianțe scăzute a pacientului la terapie, fie infecției cu o tulpină dermatofitică nouă, fie datorită dezvoltării rezistenței la agenții antimicotici utilizați în tratamentul acestora (Irimie M, et al., 2014).

Cu toate că infecțiile fungice nu produc epidemii sau pandemii, incidența acestora a crescut semnificativ, îndeosebi datorită creșterii numărului pacienților cu sistemul imun compromis. Infecțiile dermatofitice la pacienții imunocompromiși sunt mult mai variate și adesea refractare la tratament, mai severe decât la subiecții imunocompetenți. Mulți agenți patogeni care în mod normal produc infecții cutanate localizate, autolimitante, pot avea o morbiditate și o mortalitate ridicate la indivizii imunocompromiși (Odom 1994; Elewski et al, 1994). La acești pacienți imunocompromiși corectitudinea și precocitatea diagnosticului devine esențială în scop epidemiologic și pentru instituirea unui tratament corect.



In vitro susceptibility of dermatophytes isolated from patients with end-stage renal disease: a case-control study

Marius Irimie,¹ Alexandru Tătaru,² Alexandru Oantă¹ and Marius Moga³

¹Department of Dermatology, Transilvania University, Brasov, Romania, ²Department of Dermatology, University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania and ³Department of Gynecology, Transilvania University, Brasov, Romania

Irimie M., Tătaru A., Oantă A., Moga M. *In vitro* susceptibility of dermatophytes isolated from patients with end-stage renal disease: a case-control study. *Mycoses*. 2014 Mar;57(3):129-34. DOI: [10.1111/myc.12114](https://doi.org/10.1111/myc.12114).

Deși eficacitatea terapeutică a antifungicelor sistemice este bine cunoscută pentru dermatofitoze în populația generală, există date limitate cu privire la pacienții cu boală cronică de rinichi (BCR). În acest studiu caz-control, ne-am propus să investigăm speciile de dermatofiți care cauzează dermatofitoze la pacienții cu insuficiență renală cronică (IRC) terminală. Am determinat, de asemenea, susceptibilitatea *in vitro* a dermatofiților la ketoconazol, itraconazol, voriconazol, fluconazol și terbinafină la acest grup de pacienți. Am comparat rezultatele cu cele de la indivizi cu funcție renală normală.

Material și metodă

Populația studiului

Au fost selectați pentru includere în acest studiu 87 de pacienți (42 femei și 45 bărbați; sex ratio M/F de 1,07) diagnosticați cu IRC în stadiu terminal (stadiul 5 BCR), care urmau un program de hemodializă de 2 sau 3 ori pe săptămână și care au fost consultați pentru infecții dermatofitice. Studiul a fost unul de tip prospectiv, longitudinal, de tip observațional, efectuat cu consimțământul informat al pacienților. La pacienții cu IRC au fost evaluate: etiologia IRC; stadiul IRC; vechimea IRC; perioada de efectuare a hemodializei. Vârsta medie a acestui grup a fost de 59,96±10,10 ani, cu limitele cuprinse între 34 și 76 de ani. Durata medie de evoluție a IRC din momentul stabilirii diagnosticului a fost de

7,35±4,46 ani, iar durata medie de efectuare a hemodializei a fost de 2,72±4,95 ani. În paralel a fost analizat un lot martor de control format din 105 pacienți imunocompetenți cu funcție renală normală (59 bărbați și 46 femei) cu vârsta cuprinsă între 18 și 71 de ani (vârsta medie de 54,59±11,2 ani), care prezentau de asemenea semne ale unei infecții dermatofitice.

De la fiecare pacient inclus în studiu din ambele grupuri s-a recoltat material patologic prin raclaj de la nivelul leziunilor cutanate sau unghiale. Mostrele prelevate din zonele infectate au fost examinate prin examen microscopic direct și au fost însămânțate pe mediul Sabouraud agar cu adaos de cycloheximide, cloramfenicol și gentamicină (Bio-Rad, Franța) și incubate la 30°C timp de 2-4 săptămâni. Identificarea speciei dermatofitice s-a efectuat pe baza caracteristicilor macroscopice și microscopice ale coloniilor crescute pe mediul de cultură. Testarea sensibilității antidermatofitice a fost efectuată utilizând metoda microdiluțiilor succesive în mediu de cultură lichid conform criteriilor *Clinical and Laboratory Standards Institute M38-P* (National Committee, 1998). Pentru testarea in vitro a sensibilității dermatofiților au fost folosite cinci substanțe antifungice: ketoconazol (KTZ) (Janssen Pharmaceutica), itraconazol (ITZ) (Janssen Pharmaceutica), fluconazol (FLZ) (Pfizer Pharmaceuticals Group), voriconazol (VCZ) (Pfizer Pharmaceuticals Group) și terbinafină (TBF) (Novartis-Pharma AG). Alegerea acestor agenți antifungici a fost determinată de faptul că aceștia sunt larg utilizați în practică în administrare sistemică și pentru că pentru aceștia există deja protocoale de testare. ITZ, KTZ, FLZ și VCZ au fost dizolvate în soluție dimethyl sulphoxid 100%, iar TBF a fost dizolvată în soluție dimethyl sulphoxid cu 5% Tween 80 urmând protocolul lui Jessup (Jessup et al. 2000). Pentru fiecare substanță antimitotică au fost efectuate 10 diluții succesive (1:2) până la reducerea de peste 100 de ori a concentrației inițiale. Concentrațiile diluțiilor seriale ale substanțelor antifungice au variat între: 0,0625-32 μg/ml pentru KTZ și ITZ, 0,125-64 μg/ml pentru FLZ, 0,0078-4 μg/ml pentru VCZ și TBF. O specie dermatofitică a fost considerată ca rezistentă la un agent antifungic dacă CMI a fost ≥8 μg/ml pentru KTZ, ≥4 μg/ml pentru ITZ, VCZ și TBF, și ≥64 μg/ml pentru FLZ.

Coloniile dermatofitice obținute au fost reînsămânțate pe mediul Sabouraud la 30°C timp de 7-15 zile, timp necesar obținerii sporulării dermatofiților. Plăcile Petri cu mediul Sabouraud agar au fost acoperite cu 5 ml de apă distilată sterilă pentru ca apoi coloniile dermatofitice să fie răzuite cu o ansă sterilă iar suspensia formată din conidii și fragmentele de hife să fie transferată în tuburi cu ajutorul

unei pipete Pasteur. Tubul a fost lăsat 15-20 de minute la temperatura camerei pentru sedimentarea particulelor grele iar supernatantul rezultat a fost centrifugat la 2000 rpm timp de 15 secunde. Supernatantul a fost apoi ajustat și standardizat spectrofotometric la aproximativ 0,5 unități McFarland la lungimea de undă de 520 nm și o transmitere de 70-80%. Volumul inoculului a fost ajustat la 5 ml prin diluare cu mediul RPMI 1640 tamponat până la concentrația dorită de $0,5-5 \times 10^4$ CFU/ml. Inoculul astfel obținut a fost transferat în vacutainere închise, conținând apă distilată sterilă și au fost păstrate în frigider la temperatura de 4°C până în momentul utilizării.

Mediul utilizat pentru efectuarea testului de sensibilitate în microdiluții a fost RPMI 1640 (Sigma-Aldrich) tamponat în prealabil până la pH de 7 cu soluție 0.165 M acid 3-(N-morpholino) propansulfonic (MOPS). Au fost folosite plăci sterile de microtitrare cu 96 godeuri cu fundul plat cu capacitatea nominală a unui godeu de 300 μl conform protocolului M38-P. În fiecare din godeurile de pe coloanele 2 până la 11, au fost adăugați câte 100 μl din suspensia de inocul și 100 μl din tuburile conținând diluția corespunzătoare crescătoare a fiecărui agent antimicotic. Coloana numărul 1 a fost umplută cu 200 μl din mediul RPMI 1640 și a servit ca și control de sterilitate. În godeurile coloanei numărul 12 au fost repartizate câte 100 μl din soluția de inocul și 100 μl din mediul RPMI 1640 servind ca și control de creștere. Plăcile de microdiluție au fost incubate la 30°C timp de 7 zile. Rata creșterii în fiecare godeu a fost evaluată vizual zilnic pe baza comparației cu creșterea în godeurile conținând doar substanța antimicotică și cele fără medicament începând cu 48 de ore din momentul inoculării. Rata creșterii dermatofiților în mediul de cultură RPMI 1640 a fost înregistrată ca: 4 – creștere abundentă la fel ca în coloana control; 3 – ușoară scădere a creșterii (reducere a creșterii de $\approx 25\%$); 2 – reducere semnificativă a creșterii (reducere a creșterii de $\approx 50\%$); 1 – creștere de abia vizibilă (reducere a creșterii de $\approx 75\%$) și 0 – absența dezvoltării coloniilor.

Concentrația minimă inhibitorie (CMI) pentru ITZ, KTZ, FLZ și VCZ a fost considerată, conform criteriilor *Clinical and Laboratory Standards Institute M38-P*, cea mai mică concentrație a substanței antimicotice care a realizat o inhibare a creșterii de aproximativ 80%, iar pentru TBF cea mai mică concentrație care a prezentat o inhibare a creșterii de 100% comparativ cu coloana de control de creștere (Ghannoum et al., 2004; Gupta et al., 2003). Pentru fiecare asociere specie dermatofitică - medicament a fost determinată CMI medie. De asemenea a fost calculată și media geometrică a CMI

pentru a facilita compararea cu CMI₅₀ (CMI care inhibă creșterea a 50% dintre probe) și CMI₉₀ (CMI la care 90% dintre probe sunt inhibate).

Analiza statistică

Analiza statistică a fost efectuată cu ajutorul softurilor *Microsoft Excel 2007*[®]. Au fost calculate riscul relativ și Odds ratio cu un interval de încredere de 95% pentru toți factorii de risc luați în considerare. Variabilele calitative au fost comparate prin testul χ^2 între cazurile de studiu și cele martor. Au fost calculate CMI medie, CMI₅₀ și CMI₉₀ a fiecărei substanțe antimicotice studiate pentru dermatofiii izolați în rândul grupului subiecților martor și din grupul pacienților cu IRC cu hemodializă. Semnificația diferenței dintre valorile medii ale CMI ale celor cinci substanțe antimicotice testate (KTZ, ITZ, FLZ, VCZ, TBF) în grupurile mai sus amintite a fost calculată utilizând testul *t-Student*. A fost considerată semnificativă statistic o valoare a $p < 0.05$.

Rezultate

Dintre cei 87 pacienți hemodializați, în urma investigațiilor micologice, la 28 (32,18%) au rezultat probe pozitive pentru dermatofii, la 9 (10,34%) pentru *Candida spp.* și într-un caz pentru mucegaiuri (1,15%) (*Scopulariopsis brevicaulis*). Frecvența infecțiilor dermatofitice în funcție de etiologia insuficienței renale cronice este redată în tabelul I. Incidența infecțiilor dermatofitice nu s-a corelat statistic nici cu durata de evoluție a IRC și nici cu durata de efectuare a hemodializei ($p > 0.05$). Forma clinică cea mai frecventă a infecției dermatofitice a fost tinea unguium întâlnită la 13 dintre cei 28 pacienți (46,43%) cu IRC cu infecție dermatofitică, fiind urmată de tinea pedis la 9 pacienți (32,14%), tinea cruris la 3 pacienți (10,71%), tinea manum 2 pacienți (7,14%) și tinea corporis la 1 pacient (3,57%).

În lotul martor rata infecțiilor dermatofitice a fost de 29,52% iar a infecției cu *Candida spp.* de 8,5%. Tinea unguium a fost de asemenea forma clinică cea mai frecventă a dermatofitiilor și în cel al subiecților martor 13 cazuri (41,93%), fiind urmată de tinea pedis la 10 subiecți (32,25%), tinea cruris la 4 pacienți (12,9%), tinea corporis la pacienți (6,45%) și tinea manum și tinea faciei la câte 1 pacient (3,22%). Agenții etiologici pentru fiecare formă clinică a dermatofitei în cele două grupuri de pacienți sunt prezentați în tabelul I.

Tabel I. Agenții etiologici ai infecțiilor dermatofitice în ambele grupuri

| | <i>T. rubrum</i> | | <i>T. mentagrophytes</i> | | <i>M. canis</i> | | <i>E. floccosum</i> | |
|----------------------|------------------|---------|--------------------------|---------|-----------------|---------|---------------------|---------|
| | IRC | Control | CRFIRC | Control | IRC | Control | IRC | Control |
| Tinea unguium | 11 | 12 | 2 | 1 | - | - | - | - |
| Tinea pedis | 7 | 8 | 2 | 2 | - | - | - | - |
| Tinea cruris | 2 | 2 | - | 1 | - | - | 1 | 1 |
| Tinea corporis | - | - | - | - | 1 | 2 | - | - |
| Tinea manum | 2 | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Tinea faciei | - | - | - | - | - | 1 | - | - |
| <i>Total tulpini</i> | 22 | 23 | 4 | 4 | 1 | 3 | 1 | 1 |
| % | 78.57% | 74.2% | 14.28% | 12.9% | 3.57% | 9.67% | 3.57% | 3.22% |

Valorile CMI medii ale tuturor substanțelor antifungice studiate pentru tulpinile dermatofitice izolate de la pacienții cu CKD au avut valori apropiate de cele obținute în grupul de control ($p > 0.05$) (Tabel II). Nu a fost înregistrat nici un caz de rezistență a tulpinilor dermatofitice izolate la niciunul dintre cele cinci substanțe antifungice testate.

Table II. MIC medie a antifungicelor la dermatofitii izolați de la pacienții cu IRC

| Substanța antifungică | Specia dermatofitică | MIC medie | | MIC ₅₀ | | MIC ₉₀ | |
|-----------------------|--------------------------|--------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|
| | | CRF μg/ml | Control μg/ml | CRF μg/ml | Control μg/ml | CRF μg/ml | Control μg/ml |
| Ketoconazol | <i>T. rubrum</i> | 0.18 | 0.172 | 0.15 | 0.062 | 2 | 1 |
| | <i>T. mentagrophytes</i> | 1.125 | 0.56 | 1 | 0.25 | 2 | 1 |
| | <i>M. canis</i> | 0.5 | 0.66 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 1 |
| | <i>E. floccosum</i> | 0.5 | 0.25 | 0.5 | 0.25 | 0.5 | 0.25 |
| Itraconazol | <i>T. rubrum</i> | 0.11 | 0.08 | 0.062 | 0.062 | 0.5 | 0.5 |
| | <i>T. mentagrophytes</i> | 0.093 | 0.078 | 0.125 | 0.062 | 0.125 | 0.25 |
| | <i>M. canis</i> | 0.25 | 0.208 | 0.25 | 0.062 | 0.25 | 0.25 |
| | <i>E. floccosum</i> | 0.125 | 0.0625 | 0.125 | 0.0625 | 0.125 | 0.0625 |
| Fluconazol | <i>T. rubrum</i> | 5.9 | 6.6 | 4 | 4 | 8 | 8 |
| | <i>T. mentagrophytes</i> | 12 | 9 | 8 | 8 | 16 | 32 |
| | <i>M. canis</i> | 16 | 9.3 | 16 | 8 | 16 | 16 |
| | <i>E. floccosum</i> | 4 | 2 | 4 | 2 | 4 | 2 |
| Voriconazol | <i>T. rubrum</i> | 0.14 | 0.11 | 0.062 | 0.062 | 0.5 | 0.25 |
| | <i>T. mentagrophytes</i> | 0.087 | 0.062 | 0.0625 | 0.125 | 0.125 | 0.5 |
| | <i>M. canis</i> | 0.25 | 0.145 | 0.25 | 0.031 | 0.25 | 0.5 |
| | <i>E. floccosum</i> | 0.125 | 0.0625 | 0.125 | 0.0625 | 0.125 | 0.0625 |
| Terbinafină | <i>T. rubrum</i> | 0.008 | 0.008 | 0.007 | 0.007 | 0.015 | 0.015 |
| | <i>T. mentagrophytes</i> | 0.017 | 0.011 | 0.015 | 0.015 | 0.031 | 0.030 |
| | <i>M. canis</i> | 0.031 | 0.041 | 0.031 | 0.015 | 0.031 | 0.062 |
| | <i>E. floccosum</i> | 0.007 | 0.007 | 0.007 | 0.007 | 0.007 | 0.007 |

Discuții

Studiile au arătat că pacienții cu IRC sunt mai susceptibili la infecțiile dermatofitice, în principal la onicomicoză, care este a doua cea mai frecventă afecțiune unghială la pacienții care efectuează hemodializă, cu o prevalență care variază între 6,2% și 69,8% (Kuvandik et al. 2007; Dyachenko et al. 2007; Abdelaziz et al, 2010). Aceste infecții dermatofitice pot fi prezente înaintea începerii hemodializei sau pot debuta după aceasta. La pacienții cu IRC în stadii terminale, creșterea susceptibilității la infecțiile cutanate pare a fi cauzată de modificările imunologice și histologice tegumentare induse de uremie (Lundin et al, 1995).

În acest studiu am observat existența unei frecvențe mai crescute (32,18%) a infecțiilor dermatofitice la pacienții cu IRC hemodializați comparativ cu lotul martor. *T. rubrum* a fost cel mai frecvent dermatofit izolat din culturi și a fost urmat de *T. mentagrophytes*. La alți 10,34% dintre pacienții dializați au fost diagnosticate infecții levurice și la 1,15% infecție cu *Scopulariopsis brevicaulis* (Irimie et al., 2014). Spre deosebire de alte studii anterioare (Tercedor et al, 2001; Altmeyer et al, 1982; Kuvandik et al, 2007), în studiul nostru incidența infecțiilor dermatofitice nu s-a corelat statistic nici cu durata de evoluție a IRC și nici cu durata de efectuare a hemodializei.

Terapiile antifungice orale reprezintă tratamentul de elecție pentru dermatofitoze. Scopul principal în tratarea pacienților cu IRC este alegerea celui mai eficient medicament antifungic. Cu toate acestea, utilizarea acestor medicamente poate duce la reacții adverse nedorite care la pacienții hemodializați ar putea fi deosebit de periculoase. Deși studiile clinice anterioare la indivizi imunocompetenți dezvăluie că terbinafina are o vindecare mai mare și rate mai lente de recădere cu o durată mai scurtă a tratamentului (Evans et al., 1999), sunt disponibile mai puține date clinice despre eficacitatea sa la pacienții cu BRC.

Din rezultatele studiului nostru a reieșit că terbinafina are activitatea antifungică cea mai ridicată, CMI medie a terbinafinei fiind mult mai mică decât a celorlalți agenți antifungici. În schimb CMI medii obținute pentru ketoconazol, itraconazol, voriconazol și fluconazol susțin necesitatea unor concentrații mai mari pentru a obține un efect fungistatic, datorită mecanismului de acțiune al azolilor (Carrillo-Munõz et al. 2010). Rezultatele studiului lui Magagnin (Magagnin et al, 2011) subliniază problemele ce implică terapia pacienților imunocompromiși cu antifungice azolice având în vedere că

rata rezistenței la fluconazol a fost de 100%, la ketoconazol de 53,8% și la itraconazol de 42,3%, în schimb antifungicele non-azolice, precum terbinafina, au o activitate antidermatofitică mult mai ridicată (Favre et al, 2003).

Remarcând variațiile profilului de activitate a diferitelor specii de dermatofiți la antifungicele evaluate, identificarea speciei dermatofitice care cauzează infecția devine esențială în scopul alegerii tratamentului corespunzător, iar în cazul înregistrării unor eșecuri terapeutice, evaluarea *in vitro* a activității antidermatofitice trebuie efectuată de rutină (Irimie M, et al., 2014). Întrucât terbinafina a fost cel mai activ agent *in vitro*, considerăm că terbinafina ar trebui să fie tratamentul de elecție pentru dermatofitoze la pacienții cu BRC, iar strategia de tratament antifungic la acești pacienți nu trebuie să fie diferită de populația imunocompetentă (Irimie et al., 2014).

Concluzii

Luând în considerare variațiile profilului de susceptibilitate a diferitelor specii dermatofitice la antifungicele testate, identificarea speciilor de dermatofiți care cauzează dermatofitia devine esențială în scopul alegerii tratamentului adecvat, iar evaluarea *in vitro* a activității antidermatofitice trebuie efectuată în mod uzual.

Prevalence and Antifungal Susceptibility Patterns of Dermatophytes Isolated from Patients with Neoplastic Diseases: A Case Control Study

Marius Irimie¹, Alexandru Oanță¹, Claudia Alexandrina Irimie², Dan Ioan Minea³

¹Department of Dermatology, Transilvania University, Brasov, Romania; ²Department of Endocrinology, Transilvania University, Brasov, Romania; ³Department of Neurology, Transilvania University, Brasov, Romania

Irimie M, Oanță A, Irimie CA, Minea DI. Prevalence and Antifungal Susceptibility Patterns of Dermatophytes Isolated from Patients with Neoplastic Diseases: A Case Control Study. *Acta Dermatovenerol Croat.* 2015;23(2):108-113.

<http://adc.mef.hr/index.php/adc/article/view/1636/814>.

În continuarea cercetării anterioare am efectuat un studiu asupra prevalenței dermatofitiilor și sensibilității la antifungice a tulpinilor dermatofitice izolate la o altă categorie de pacienți imunodeprimați, și anume pacienții neoplazici. Pacienții cu afecțiuni maligne, sever imunocompromiși, prezintă un risc deosebit de infecție cu dermatofiti (Ameen 2010).

Material și metodă

Populația studiului

A fost realizat un studiu prospectiv, longitudinal, observațional cu consimțământul informat al pacienților. În acest studiu au fost incluși 138 de pacienți (71 bărbați și 67 femei, sex ratio M/F 1,06) diagnosticați cu diverse afecțiuni maligne care au fost consultați pentru infecții dermatofitice în ambulatoriul de dermatologie sau au fost internați în Spitalul Clinic Județean de Urgență Brașov. Doar pacienții care nu au efectuat nicio terapie imunosupresoare sau radioterapie în ultimele 6 luni au fost incluși în studiu. Afecțiunile maligne diagnosticate în lotul de studiu sunt menționate în tabelul III. Vârsta

medie a acestui grup a fost de $58,84 \pm 13,08$ ani, cu un interval cuprins între 8 și 83 de ani. Durata medie a evoluției neoplaziei la momentul diagnosticului a fost de $3,17 \pm 1,96$ ani.

Tabelul III. Frecvența infecțiilor dermatofitice la pacienții neoplazici

| Neoplazia | Nr. pacienți | Rata infecțiilor dermatofitice |
|------------------------------------|--------------|--------------------------------|
| Carcinom colorectal | 23 | 26.08% |
| Cancer mamar | 22 | 22.72% |
| Adenocarcinom gastric | 17 | 35.30% |
| Leucemie | 16 | 68.75% |
| Adenocarcinom de prostată | 13 | 23.07% |
| Limfom | 11 | 36.36% |
| Cancer col uterin | 11 | 18,18% |
| Cancer ovarian | 8 | 12.50% |
| Carcinom pulmonar | 7 | 28.57% |
| Carcinom spinocelular cutaneomucos | 4 | 25.00% |
| Melanom | 3 | 33.33% |
| Carcinom hepatic | 2 | 0% |
| Cancer esofagian | 1 | 0% |

În paralel, a fost analizat și un grup de control format din 160 de pacienți imunocompetenți (84 bărbați și 76 femei, sex ratio M/F 1,1) cu vârsta cuprinsă între 18 și 78 de ani (vârsta medie $56,42 \pm 11,7$ ani) care prezentau semne de infecții dermatofitice. Materialul patologic a fost colectat prin răzuirea pielii sau tăierea leziunilor unghiale de la fiecare pacient din ambele grupuri. Probele de piele și unghii au fost colectate în vase Petri și probele au fost imediat transportate la laboratorul de micologie. Tehnicile de investigare de laborator și analiza statistică au fost efectuate utilizând aceiași metodologie ca la studiul anterior (Irimie M, et al., 2014).

Rezultate

În urma investigațiilor micologice la cei 138 de pacienți neoplazici, probele pozitive pentru infecție dermatofitică au rezultat la 42 de pacienți (30,4%), pentru *Candida spp.* la 14 pacienți (10,14%) și pentru *Aspergillus* la un pacient (0,72%). Frecvența infecțiilor dermatofitice în funcție de tipul de neoplazie este prezentată în tabelul IV. Riscul de a dezvolta infecție dermatofitică nu a fost influențat de vârsta pacienților neoplazici. Distribuția pe sexe a infecțiilor dermatofitice la pacienții neoplazici a fost aproximativ egală: 29,85% pentru femei și 30,98% pentru bărbați.

Tabelul IV. Agenții etiologici și formele clinice de infecții dermatofitice în ambele grupuri de studiu

| | <i>T. rubrum</i> | | <i>T. mentagrophytes</i> | | <i>M. canis</i> | | <i>E. floccosum</i> | | Total | |
|-----------------------|------------------|---------|--------------------------|---------|-----------------|---------|---------------------|---------|-----------|---------|
| | Neoplasia | Control | Neoplasia | Control | Neoplasia | Control | Neoplasia | Control | Neoplasia | Control |
| Tinea unguium | 18 | 19 | 1 | 2 | - | - | - | - | 45.2% | 44.7% |
| Tinea pedis | 7 | 11 | 2 | 2 | - | - | 1 | 1 | 23.8% | 29.8% |
| Tinea cruris | 3 | 4 | 1 | 1 | - | - | - | 1 | 9.5% | 12.8% |
| Tinea corporis | 2 | 2 | - | - | 2 | 1 | - | - | 9.5% | 6.4% |
| Tinea manum | 2 | 1 | - | - | - | - | - | - | 4.8% | 2.1% |
| Tinea faciei | - | - | - | - | 1 | 1 | - | - | 2.4% | 2.1% |
| Tinea capitis | - | - | - | - | 1 | - | - | - | 2.4% | 0% |
| Tinea barbae | - | - | - | - | 1 | 1 | - | - | 2.4% | 2.1% |
| <i>Total strains</i> | 32 | 37 | 4 | 5 | 5 | 3 | 1 | 2 | 42 | 47 |
| % | 76.2% | 78.7% | 9.5% | 10.6% | 11.9% | 6.4% | 2.3% | 4.2% | 100.0% | 100.0% |

Tinea unguium a fost cea mai frecventă formă clinică de dermatofitoză întâlnită la 19 din cei 42 de pacienți (45,2%) cu afecțiuni maligne, urmată de tinea pedis la 10 pacienți (23,8%), tinea cruris și tinea corporis la 4 pacienți fiecare (9,5. %), tinea manum la 2 pacienți (4,8%), tinea faciei, tinea capitis și tinea barbae la câte un pacient (2,4%). Ratele de infecție cu dermatofiți și levuri în grupul de control au fost de 29,37% (47 pacienți) și, respectiv, 5,6% (9 pacienți). Tinea unguium a fost, de asemenea, cea mai frecventă formă clinică de dermatofitoză în lotul martor fiind întâlnită în 21 de cazuri (44,7%), urmată de tinea pedis la 14 pacienți (29,8%), tinea cruris la 6 pacienți (12,8%), tinea corporis la 3 pacienți (6,4%), tinea manum, tinea barbae și tinea faciei la câte 1 pacient (2,1%).

Agenții etiologici pentru fiecare formă clinică de dermatofitoză din cele două grupe de pacienți sunt prezentați în tabelul II. În ambele grupuri, *T. rubrum* a fost cel mai frecvent izolat. Nu a existat nicio diferență semnificativă statistic în modelele de frecvență ale *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *M. canis* și *E. floccosum* între cele două grupuri ($p > 0,05$).

Analiza statistică a CMI, incluzând valorile medii ale CMI, CMI50 și CMI90 ale KTZ, ITZ, VCZ, FLZ și TBF pentru *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *M. canis* și *E. floccosum* la pacienții cu neoplazie și în grupul martor sunt rezumate în tabelul III.

Tabelul III. Valorile medii ale CMI ale antifungicelor pentru toate speciile de dermatofiți izolate în ambele grupuri

| Antifungal | Dermatophyte species | Mean MIC | | MIC ₅₀ | | MIC ₉₀ | |
|--------------|--------------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|
| | | Neoplasia μg/mL | Control μg/mL | Neoplasia μg/mL | Control μg/mL | Neoplasia μg/mL | Control μg/mL |
| Ketoconazole | <i>T. rubrum</i> | 0.19 | 0.172 | 0.15 | 0.062 | 1 | 1 |
| | <i>T. mentagrophytes</i> | 0.75 | 0.65 | 0.5 | 0.5 | 1 | 1 |
| | <i>M. canis</i> | 0.8 | 0.67 | 1 | 0.5 | 1 | 1 |
| | <i>E. floccosum</i> | 0.5 | 0.375 | 0.25 | 0.25 | 0.5 | 0.25 |
| Itraconazole | <i>T. rubrum</i> | 0.118 | 0.08 | 0.062 | 0.062 | 0.5 | 0.5 |
| | <i>T. mentagrophytes</i> | 0.156 | 0.0875 | 0.125 | 0.062 | 0.25 | 0.125 |
| | <i>M. canis</i> | 0.275 | 0.33 | 0.25 | 0.062 | 0.5 | 0.5 |
| | <i>E. floccosum</i> | 0.125 | 0.094 | 0.125 | 0.0625 | 0.125 | 0.125 |
| Fluconazole | <i>T. rubrum</i> | 6.1 | 6.6 | 4 | 4 | 8 | 8 |
| | <i>T. mentagrophytes</i> | 26 | 10.4 | 16 | 8 | 64 | 16 |
| | <i>M. canis</i> | 12.8 | 10.6 | 16 | 8 | 16 | 16 |
| | <i>E. floccosum</i> | 4 | 3 | 4 | 2 | 4 | 4 |
| Voriconazole | <i>T. rubrum</i> | 0.15 | 0.11 | 0.062 | 0.062 | 0.5 | 0.25 |
| | <i>T. mentagrophytes</i> | 0.312 | 0.275 | 0.25 | 0.25 | 0.5 | 0.5 |
| | <i>M. canis</i> | 0.225 | 0.208 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| | <i>E. floccosum</i> | 0.125 | 0.0625 | 0.125 | 0.0625 | 0.125 | 0.0625 |
| Terbinafine | <i>T. rubrum</i> | 0.009 | 0.008 | 0.007 | 0.007 | 0.031 | 0.015 |
| | <i>T. mentagrophytes</i> | 0.023 | 0.021 | 0.015 | 0.015 | 0.031 | 0.031 |
| | <i>M. canis</i> | 0.034 | 0.041 | 0.031 | 0.031 | 0.062 | 0.062 |
| | <i>E. floccosum</i> | 0.062 | 0.046 | 0.062 | 0.015 | 0.062 | 0.062 |

Valorile medii ale CMI ale tuturor antifungicelor studiate pentru toate tulpinile de dermatofiți izolate de la pacienții cu neoplazie au fost similare cu cele obținute în grupul de control ($p > 0,05$). Activitatea *in vitro* a KTZ, ITZ, VCZ, FLZ și TBF împotriva dermatofiților la pacienții cu neoplazie a fost similară cu cea a pacienților imunocompetenți. TBF a avut cel mai scăzute și FLZ a avut cele mai mari valori medii ale CMI, CMI50 și CMI90 pentru toți dermatofiții testați în ambele grupuri. A fost înregistrat un caz de rezistență la FLZ a unei tulpini de *T. mentagrophytes* izolată de la un pacient cu neoplazie. Pacientul urmasa anterior tratamente repetate cu fluconazol pentru infecții recurente cu candida.

Discuții

Infecțiile dermatofitice la pacienții imunocompromiși sunt adesea diseminate, asimptomatice și refractare la tratament. În acest context, acuratețea și precocitatea diagnosticului devin esențiale în scopuri epidemiologice și pentru stabilirea unui tratament adecvat, iar testarea sensibilității este obligatorie deși corelația dintre testele *in vitro* și răspunsul terapeutic *in vivo* nu a fost complet definită.

În acest studiu am investigat speciile de dermatofiți care cauzează infecții, precum și susceptibilitatea in vitro a acestora la medicațiile antimicotice, la pacienții cu neoplazie și am comparat rezultatele cu cele obținute de la indivizi imunocompetenți. Astfel, am observat existența unei frecvențe ușor mai mari a infecțiilor dermatofitice la pacienții cu boli neoplazice (30,4%) comparativ cu persoanele imunocompetente (29,37%) ($p > 0,05$). Tinea unguium a fost cea mai frecventă formă clinică de infecție dermatofitică întâlnită la 19 din cei 42 de pacienți (45,2%) cu neoplazie. Rezultatele noastre au indicat faptul că, similar populației imunocompetente, *T. rubrum* a fost principalul agent responsabil pentru infecția cu dermatofiți la pacienții neoplazici, fiind urmat de *M. canis*. Infecțiile cu levuri și mucegaiuri au fost diagnosticate la 10,14% și, respectiv, 0,72% dintre pacienții cu afecțiuni maligne. Într-un caz a existat o infecție mixtă a unghiei cu *Candida albicans* și *T. rubrum*. În circumstanțe excepționale pot exista infecții fungice mixte, arhetipul acestor infecții mixte fiind asocierea *Scopulariopsis brevicaulis* și *T. rubrum* în onicomicoză. De asemenea, s-a raportat în literatură combinația de *Mucor spp.* și *Candida spp.* la bolnavii neoplazici (Piérard & Quatresooz et al., 2006).

În special, pacienții cu limfom sau leucemie sunt mai susceptibili la infecții fungice profunde în perioadele cu neutropenie severă după chimioterapie sau transplant de măduvă osoasă (Walsh et al., 1994; Mays et al., 2006). În studiul nostru a existat o frecvență semnificativ mai mare a infecțiilor cu dermatofiți la pacienții cu afecțiuni hematologice maligne (55,5%) comparativ cu cei cu cancer solid (24,3%) (Irimie et al., 2015), similar studiului lui Altay (Altay et al., 2011) care a constatat, de asemenea, o incidență semnificativ mai mare a infecțiilor fungice cu 70% la pacienți cu afecțiuni maligne hematologice comparativ cu subiecții sănătoși, dar a predominat infecția mucoasei cu *Candida albicans*. Pacienții cu tumori solide care sunt tratați cu radioterapie sau chimioterapie în doze mici au un risc mai mic de a face dermatofiții (Quatresooz et al., 2008).

Vârsta și comorbiditățile pacienților neoplazici, precum diabetul zaharat (Piérard et al., 2005), psoriazisul (Piérard-Franchimont et al., 2006), sindromul Cushing, malnutriția, alcoolismul, abuzul de medicamente, bolile genetice cu deficiențe imunitare, pot favoriza apariția dermatofitozelor în special a onicomicozei (Piérard & Arrese, et al. 2006).

Scopul principal în tratarea pacienților neoplazici este alegerea celui mai eficient medicament antifungic. Terapia antifungică orală reprezintă tratamentul de elecție pentru dermatofitoze

(Fernández-Torres, et al., 2002). Cu toate acestea, utilizarea acestor medicamente poate produce reacții adverse nedorite care la pacienții cu afecțiuni maligne ar putea fi deosebit de periculoase (Irimie et al., 2015). Deși studiile clinice la indivizi imunocompetenți arată că TBF are o rată de vindecare mai mare și rate mai lente de recidivă cu o durată mai scurtă de tratament, sunt disponibile mai puține date clinice despre eficacitatea sa la pacienții cu neoplazii (Irimie et al., 2015). Am constatat că toate cele cinci medicamente antifungice testate în studiul nostru sunt eficiente împotriva *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *M. canis* și *E. floccosum* la pacienții neoplazici, dar TBF are activitate antidermatofitică mai mare, MIC medie a TBF fiind mult mai mică decât a celorlalți agenți antifungici, iar FLZ a fost cel mai puțin eficient medicament antifungic, în plus fiind identificată o tulpină de *T. mentagrophytes* rezistentă la fluconazol la un pacient cu neoplazie (Irimie et al., 2015).

Concluzie

Deoarece TBF s-a dovedit a fi cel mai activ agent antidermatofitic *in vitro* și, având în vedere că activitatea sa antidermatofitică este mai eficientă în comparație cu azolii și că interacțiunile sale medicamentoase nu sunt de obicei o problemă, considerăm că TBF ar trebui să fie tratamentul de elecție pentru dermatofitoze la pacienții cu neoplazie. Cu toate acestea, sunt necesare studii suplimentare mai ample pentru a evalua siguranța administrării antifungicelor la pacienții cu afecțiuni maligne (Irimie et al., 2015).

Alte lucrări personale pe tema infecțiilor dermatofitice pe care le-am publicat în decursul timpului, inclusiv o carte, au fost:

- **Irimie M.** Micozele cutanate. Ed. Lux Libris Brașov, 2017, ISBN 978-973-131-386-3.
- Oanță A, **Irimie Marius**. Tinea on a Tattoo. *Acta Dermatovenerol Croat.* 2016 Aug;24(3):223-4. <http://adc.mef.hr/index.php/adc/article/view/2019/908>; ISSN 1330-027X (IF - 0.469/2015).
- **Irimie Marius**, Oanță A, Csiszar AA, Fekete GL. Tinea sprâncenelor: observații asupra a șase cazuri. *Oftalmologia* 2009; 53(1):81-4, ISSN 1220-0875, indexată PubMed Medline . http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19569609?ordinalpos=1&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DefaultReportPanel.Pubmed_RVDocSum.

-
- Oanță A, **Irimie Marius**, Tiplica GS, Oanță S. Different clinical aspects of tinea capitis caused by *Microsporum canis* in two brothers. *9th Spring Symposium of the European Academy of Dermatology and Venereology* Verona, Italy, 6-10 June, 2012.
 - Oanță A, Fekete LG, **Irimie Marius**. Tinea of the eyebrows. *8th Congress of the European Society for Pediatric Dermatology*, Budapest, Hungary, May 5-7, 2005; *European Journal of Pediatric Dermatology – Book of Abstracts*, P 08 11, p. 67, ISSN 1122-7672.
 - **Irimie Marius**, Tătaru A, Oanță A, Bălescu A, Deliu C, Popa M. Tinea capitis a copilului – studiu clinico-epidemiologic. *Congresul Anual al Asociației Medicale Române*, București, 6-8 mai 2010.

1.1.2. Infecții cu transmitere sexuală

Infecțiile cu transmitere sexuală (ITS) continuă să reprezinte și în prezent o problemă de sănătate publică la nivel global. Peste 1 milion de ITS sunt contacte în fiecare zi în întreaga lume la persoanele cu vârsta cuprinsă între 15 și 49 de ani, dintre care majoritatea sunt asimptomatice. Opt agenți patogeni sunt legați de cea mai mare incidență a ITS. Dintre acestea, patru sunt în prezent considerate vindecabile: sifilisul, gonoreea, chlamydia și trichomonioza. Celelalte patru sunt infecții virale: hepatita B, virusul herpes simplex (HSV), HIV și virusul papiloma uman (HPV). În plus, apariția unor noi infecții care pot fi dobândite prin contact sexual, cum ar fi mpox, *Shigella sonnei*, *Neisseria meningitidis*, Ebola și Zika, precum și reapariția unor ITS neglijate, cum ar fi limfogranulomatoza veneriană, anunță provocări tot mai mari în furnizarea de servicii adecvate pentru prevenirea și controlul ITS (WHO, 2024).

În ultimele decade s-a observat o recrudescență a ITS cauzate de *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* și *Treponema pallidum*. Această creștere reflectă pe de o parte o îmbunătățire a detecției, în special pentru infecția genitală cu chlamydia (cu noi tehnologii de diagnosticare) și pe de altă parte o deteriorare a infrastructurii de asistență medicală (în fostele state ale URSS). Cu toate acestea, factorul major de creștere este cel mai probabil schimbarea comportamentului sexual: scăderea vârstei debutului vieții sexuale, perioada de experimentare și schimbare a partenerilor s-a prelungit, probabilitatea ca actul sexual cu un nou partener să fie neprotejat este mai mare în special pentru cei cu vârsta peste 16 ani. Gradul de conștientizare și teamă de infecția cu HIV și SIDA în rândul tinerilor este în scădere, teama majoră fiind de sarcina neintenționată, decât de contactare a unei ITS. A fost observată și o creștere a incidenței gonoreei în rândul bărbaților homosexuali în asociere cu creșterea rezistenței antimicrobiene (Catchpole, 2001; Irimie, 2017).

ITS pot fi prevenite și controlate prin trei strategii de bază: reducerea riscului de transmitere în orice tip de contact sexual (folosirea prezervativelor), reducerea ratei de schimbare a partenerului sexual și reducerea perioadei de infecțiozitate. Programele de control au pus accent pe primele două strategii, îndeosebi după declanșarea epidemiei de infecție cu HIV. Dovezile privind eficacitatea acestor programe educaționale pentru sănătate sunt destul de limitate, dar în mod categoric va continua să fie

promovate, deoarece toate strategiile de limitare a ITS vor beneficia de o mai bună conștientizare a populației și de deschidere cu privire la sănătatea sexuală.

Noi oportunități de control al ITS provin din strategii care vor reduce perioada de infecțiozitate a pacienților prin servicii mai accesibile, prin screening la contactii sexuali ai bolnavului, prin notificarea partenerului, prin terapii simplificate în doză unică pentru îmbunătățirea complianței la tratament.

În acest sens am realizat studiile care vor fi prezentate în continuare.

DOI:<http://dx.doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.17.XXXX>

Type-Specific Prevalence of Human Papillomavirus by Cytology in Romania

RESEARCH ARTICLE

Type-specific Prevalence of Human Papillomavirus by Cervical Cytology among Women in Brasov, Romania

Marius Alexandru Moga¹, Marius Irimie^{2*}, Alexandru Oanta², Alina Pascu³, Victoria Burtea⁴

Moga MA, Irimie M, Oanță A, Pascu A, Burtea V. Type-specific Prevalence of Human Papillomavirus by Cervical Cytology among Women in Brasov, Romania. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014; 15(16): 6887-92. DOI: [10.7314/apjcp.2014.15.16.6887](http://dx.doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.16.6887)

Infecția genitală cu HPV reprezintă cea mai frecventă ITS a femeilor (Aral, et al., 1999). În rândul femeilor asimptomatice, prevalența infecției HPV variază între 2 și 44% (Trottier, et al., 2006).

Papilomavirusurile umane (HPV) sunt un grup mare și divers de virusuri care cuprinde mai mult de 230 de tipuri complet caracterizate, chiar dacă noi tipuri de HPV sunt încă raportate. Conform celei mai recente clasificări, există douăsprezece genotipuri de HPV ca fiind cancerigene (HR-HPV) (Grupa 1: HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59), în timp ce HPV68 este probabil cancerigen (probabil HR-HPV) (Grupa 2A) iar HPV-urile 26, 53, 66, 67, 69, 70, 73 și 82 sunt posibil cancerigene (posibil HR-HPV) (Grupa 2B), iar tipurile LR-HPV (HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 55, 61, 81, 83) s-au dovedit că nu provoacă cancer (Grupul 4) (Correa, et al., 2022).

Aproximativ 50 dintre tipurile de HPV au un tropism ridicat pentru mucoasa ano-genitală și se transmit pe cale sexuală (Moga, et al, 2014). Infecția persistentă cu HR-HPV a fost identificată ca fiind cea mai importantă cauză a cancerului de col uterin (CC) (Faridi, et al., 2011). Există cel puțin 12 tipuri oncogene de HR-HPV care au fost recunoscute drept cauza a aproape tuturor CC, HPV16 și HPV18 fiind asociate cu peste 70% din cazuri (CC) (Ferlay, et al., 2021).

Conform Agenției Internaționale de Cercetare în Cancer GLOBOCAN 2023, CC este a patra neoplazie ca frecvență la femei și prima în grupa de vârstă 15-44 de ani (GLOBOCAN, 2023). România se află pe primul loc în Europa în ceea ce privește incidența CC. Ca urmare a numeroaselor studii care au demonstrat relația cauzală dintre HPV și CC, au fost elaborate linii directe pentru evaluarea pacienților cu risc, în special la femeile peste 30 de ani (Moga, et al, 2014). Majoritatea dintre ele recomandă frotiul Papanicolau ca test de screening pentru anomaliilor citologice. Cu toate acestea, testul Papanicolau are o sensibilitate limitată în detectarea leziunilor precanceroase, dând o rată fals-negativă ce variază de la 20 la 30% (Veena, et al., 2012). Ca o investigație complementară la citologia cervicală a apărut recomandarea efectuării genotipării HPV pentru a identifica HR-HPV la femeile cu citologie neconcludentă (Mandelblatt, et al., 2002; Moga, et al, 2014).

Frecvența ridicată a infecțiilor de tip HR-HPV în CC, în special cu HPV-16 și HPV-18, a condus la dezvoltarea de vaccinuri împotriva HPV-6, 11, 16 și 18 care au potențialul de a reduce incidența CC. Datele privind distribuția tipurilor de HPV sunt foarte importante pentru a prezice avantajele potențiale ale imunizării HPV și pentru a dezvolta teste de screening ale CC mai fiabile. Prevalența subtipurilor HPV variază între diverse populații în funcție de vârstă, regiune și tipul de populație (De Sanjosé, et al., 2010). Distribuția variată a HPV la nivelul populațiilor indică importanța anchetelor HPV în diferite regiuni geografice. Datele privind prevalența infecției cu HPV la scară largă în România nu sunt disponibile.

Obiective

Studiul și-a propus să evalueze rata infecției genitale cu HPV, să identifice prevalența genotipurilor HPV și să stabilească corelații cu citologia cervicală anormală în rândul populației feminine a județului Brașov care frecventează vizitele ginecologice de rutină.

Material și metodă

Populația studiului

În perioada ianuarie 2012 – mai 2013, unui total de 1000 de femei consecutive care au fost consultate în ambulatoriul de ginecologie din Brașov pentru examinare ginecologică de rutină, li s-a efectuat atât examenului citologic, cât și genotiparea HPV. Pacientele care au prezentat inflamație acută a aparatului genital nu au fost incluse în studiu. Vârsta medie a participantelor la studiu a fost $32,73 \pm 7,69$ ani (interval 17,3–57 ani). Pacientele au fost împărțite în funcție de vârstă în patru grupe: <25 ani (n=193), 26-35 ani (n=501), 36-45 (n=257) și >45 ani (n=49).

Probe clinice

Probele epiteliale de la nivelul colului uterin de la fiecare pacientă au fost colectate în soluție PreservCyt (Cytec Corp, Boxborough, MA) și au fost trimise laboratorului pentru testul citologic și detectarea HPV. Toate probele au fost analizate în laboratorul de patologie și, respectiv, molecular al clinicii Medlife.

Testul citologic

Probele citologice au fost obținute prin utilizarea unei citoperii endocervicale iar un anatomopatolog cu experiență a evaluat lamelele histopatologice. A fost utilizat protocolul sistemului Bethesda, revizuit de Asociația Internațională a Cancerului în 2001 (Consensus Guidelines, 2001), ca standard pentru diagnosticul citologic, rezultatele fiind clasificate în patru categorii: Negative pentru leziuni intraepiteliale sau malignitate (NILM), celule scuamoase atipice de semnificație nedeterminată (ASCUS), leziuni scuamoase intraepiteliale de grad scăzut (LSIL) și leziuni scuamoase intraepiteliale de grad înalt (HSIL).

Extracția ADN-ului

Extracția automată a ADN-ului HPV a fost realizată pe instrumentul pur MagNA (MP) folosind kitul de izolare totală a acidului nucleic MagNA Pure LC (Roche Applied Science, Mannheim, Germania), așa cum este descris de producător. Înainte de extracția automată a ADN-ului HPV pe MagNA Pure LC, 400 μ l de mediu de transport al probei au fost centrifugați cu 12.000 rpm timp de 5 minute la temperatura camerei. După eliminarea supernatantului, precipitatul a fost resuspendat în 190 μ l de

tampon de liză a țesuturilor (Roche Applied Science) urmat de adăugarea a 10 µl de proteinază K (Roche Applied Science). După incubare pe o platformă de amestecare timp de 3 ore la 56°C, proba a fost transferată în tubul de reacție MagNA Pure LC.

ADN-ul a fost izolat din 200 µl dintr-o alicotă ViraPap/Viratyping folosind MP. Un control negativ a fost inclus în fiecare extracție de ADN pentru a monitoriza procedura de izolare a ADN-ului. ADN-ul a fost resuspendat în 120 µl de H₂O de calitate PCR și stocat la -20°C până la procesarea ulterioară prin Linear Array Genotyping Test.

Toate probele au fost examinate utilizând testul de genotipare LINEAR ARRAY HPV (CE-IVD), bazat pe hibridizarea inversă a ampliconilor. ADN-ul a 37 de tipuri de HPV (6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, IS39 și CP6108) a fost detectat în mostrele epiteliale de la nivelul colului uterin prin PCR multiplex țintit spre regiunea L1 conservată a genomului viral. Sistemul Gene Amp PCR 9700 a fost folosit pentru testul de genotipare conform instrucțiunilor producătorului. Hibridizarea și detectarea automată a ADN-ului HPV au fost realizate pe ProfiBlot 48 (Tecan Trading AG, Zurich, Elveția). Un panel de probe dintr-un program extern de asigurare a calității, inclusiv HPV 16, 18 și 6, și o sondă de control negativ HPV (celule MRC-5) au fost utilizate ca referință (INSTAND, Düsseldorf, Germania).

Analiza statistică

A fost analizată distribuția infecției cu HPV în funcție de vârstă și tipul de leziuni citologice. Datele au fost analizate folosind software-ul SPSS 19.0. Caracteristicile de bază ale variabilelor continue au fost comparate folosind testul t al lui Student. Testul chi-pătrat a fost utilizat pentru compararea prevalenței între diferitele grupuri. Odds ratios (OR) și IC lor de 95% au fost calculate. Valorile ale $p < 0,05$ au fost considerate a indica o diferență semnificativă statistic.

Rezultate

A fost detectată infecția cu 35 de genotipuri diferite de HPV în 396 din 1000 de probe citologice (39,6%). Per total, la cele 396 de femei HPV pozitive au fost detectate 818 tulpini HPV, inclusiv 417 subtipuri HR-HPV. Toate tipurile de HPV detectate au fost stratificate în următoarele patru categorii: 15 tipuri HR-HPV (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 și 82), 3 tipuri PHR-HPV

(HPV 26, 53, 66), 10 tipuri LR-HPV (HPV 6, 11, 40, 42, 54, 61, 70, 72, 81 și CP6108) și 9 tipuri pentru care riscul era încă nedeterminat (UR-HPV) (HPV 55, 62, 64, 67, 69, 71, 83, 84 și IS39). Cele mai răspândite genotipuri de HPV în ordinea frecvenței au fost HPV-16 (26,01%), HPV-6 (13,38%), HPV-31 și HPV-53 (12,26%), HPV-51 (10,35%), HPV-62 și HPV-CP6108 (9,34%), HPV-18, HPV-54 și HPV-84 (8,58%) (fig. 1).

Prevalența infecției cu HPV a fost cea mai mare la femeile tinere și a scăzut odată cu vârsta ($p < 0,0001$). Femeile sub 25 de ani au avut cea mai mare prevalență a HPV (54,93%), urmate de femeile de 26-35 de ani cu o prevalență de 40,72%, femeile cu vârsta peste 45 de ani cu o prevalență a infecției cu HPV de 28,58% și cea mai scăzută prevalență a 28,02% la femeile cu vârsta cuprinsă între 36 și 45 de ani (tabelul V). Indiferent de vârstă, tipurile HR-HPV au fost cele mai frecvente (73,23% din prevalența generală a HPV), cu cea mai mare prevalență (75,5%) la femeile între 26 și 35 de ani, manifestând ulterior o scădere dependentă de vârstă ($p < 0,001$). În schimb, proporția infecției doar cu LR-HPV a arătat o creștere semnificativă specifică vârstei (9,4%, 10,3%, 13,8% și, respectiv, 21,4%; $P < 0,005$). Un vârf al ratei de infecție cu HR-HPV a existat în rândul femeilor cu vârsta mai mică de 25 de ani (29,25%), cu un al doilea vârf în rândul grupului de vârstă cel mai în vârstă (28,57%). Prevalența infecției UR-HPV a rămas aproximativ constantă în toate grupele de vârstă ($P < 0,0005$) (Moga, et al., 2014).

Infecția cu un singur tip de HPV a fost observată în 42,93% din cazuri (170 din 396 de probe pozitive) și coinfectia cu mai multe genotipuri HPV (până la 9 tipuri diferite de HPV într-o singură probă) în 57,07% din cazuri (226 din 396 mostre pozitive). S-a observat un vârf al ratei de coinfectie cu HPV în rândul femeilor sub 25 de ani (68,87%) ($p < 0,005$). Un singur subtip de HR-HPV a fost observat în 16 cazuri, combinații de multiple sub tipuri HR-HPV au fost găsite în 20 de cazuri, astfel: 2 tipuri HR-HPV în 15 cazuri, 3 tipuri HR-HPV în 3 cazuri și într-un caz fiecare 4 și 5 tipuri HR-HPV. Cel mai frecvent tip HR-HPV observat în combinații în a fost HPV-16 (Moga, et al., 2014).

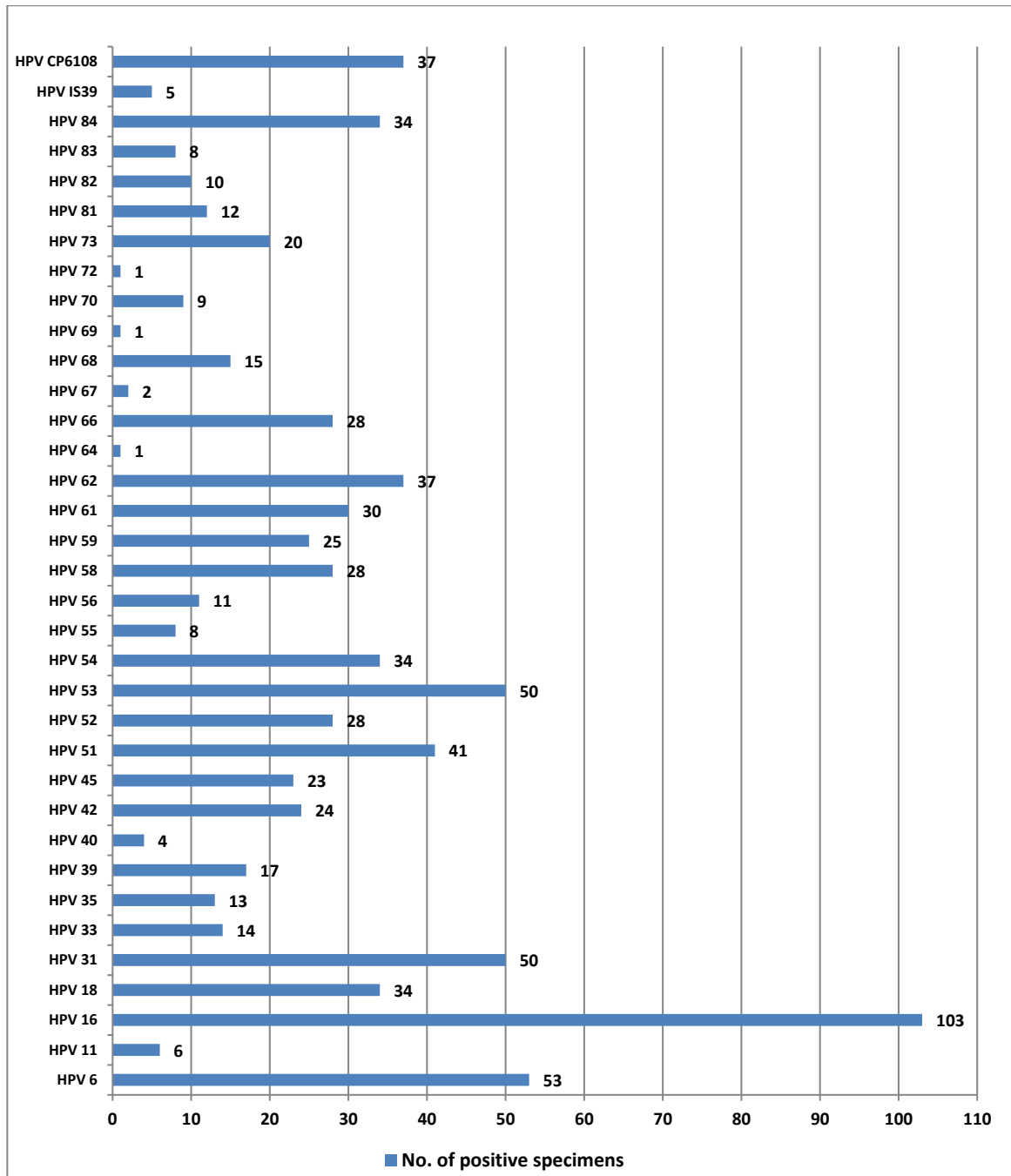


Figura 1. Distribuția genotipurilor HPV la pacientele infectate

Tabelul V. Distribuția genotipurilor HPV și diagnosticul citologic în funcție de vârstă

| Grup de vârstă | <25 ani | 26-35 ani | 36-45 ani | >45 ani | Total (%) |
|------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Număr de probe | 193 (19.3%) ^t | 501 (50.1%) ^t | 257 (25.7%) ^t | 49 (4.9%) ^t | 1000 (100%) ^t |
| HPV negativ | 87 (45.07%) ^a | 297 (59.28%) ^a | 185 (71.98%) ^a | 35 (71.42%) ^a | 604 (60.4%) ^t |
| HPV pozitiv | 106 (54.93%) ^a | 204 (40.72%) ^a | 72 (28.02%) ^a | 14 (28.58%) ^a | 396 (39.6%) ^t |
| Infecție cu o singură tulpină HPV | 33 (31.13%) ^b | 91 (44.6%) ^b | 38 (52.78%) ^b | 8 (57.15%) ^b | 170 (16.8%) ^t |
| Co-infecție cu multiple tipuri HPV | 73 (68.87%) ^b | 113 (55.4%) ^b | 34 (47.22%) ^b | 6 (42.85%) ^b | 226 (22.6%) ^t |
| HR-HPV pozitiv | 79 (74.53%) ^b | 154 (75.5%) ^b | 49 (68.05%) ^b | 8 (57.14%) ^b | 290 (29%) ^t |
| HPV-16 | 32 (30.18%) ^b | 49 (24.02%) ^b | 19 (26.4%) ^b | 3 (21.42%) ^b | 103 (10.3%) ^t |
| HPV-18 | 15 (14.15%) ^b | 15 (7.35%) ^b | 4 (5.5%) ^b | 0 (0%) ^b | 34 (3.4%) ^t |
| PHR-HPV pozitiv | 31 (29.25%) ^b | 30 (14.7%) ^b | 9 (12.5%) ^b | 4 (28.57%) ^b | 74 (7.4%) ^t |
| LR-HPV pozitiv | 57 (53.77%) ^b | 83 (40.7%) ^b | 22 (30.55%) ^b | 4 (28.57%) ^b | 166 (16.6%) ^t |
| Doar LR-HPV pozitiv | 10 (9.4%) ^b | 21 (10.3%) ^b | 10 (13.8%) ^b | 3 (21.4%) ^b | 44 (4.4%) ^t |
| UR-HPV pozitiv | 24 (22.64%) ^b | 42 (20.6%) ^b | 16 (22.22%) ^b | 4 (28.57%) ^b | 86 (8.6%) ^t |
| NILM | 141 (73.05%) ^a | 408 (81.43%) ^a | 213 (82.88%) ^a | 39 (79.6%) ^a | 801 (80.1%) ^t |
| ASCUS | 26 (13.47%) ^a | 45 (8.9%) ^a | 33 (12.84%) ^a | 4 (8.16%) ^a | 108 (10.8%) ^t |
| LSIL | 22 (11.4%) ^a | 28 (5.6%) ^a | 2 (0.78%) ^a | 4 (8.16%) ^a | 56 (5.6%) ^t |
| HSIL | 4 (4.3%) ^a | 20 (3.9%) ^a | 9 (3.5%) ^a | 2 (4.08%) ^a | 35 (3.5%) ^t |

RR – risc ridicat, PHR – risc probabil ridicat, LR – risc scăzut, UR – risc nedeterminat, NILM – negativ pentru leziuni intraepiteliale sau malignitate, ASCUS – celule scuamoase atipice cu semnificație nedeterminată, LSIL – leziune scuamoasă intraepitelială de grad scăzut, HSIL – leziune intraepitelială de grad înalt.

^t procentaj din total, ^{un} procent pentru toate probele din grupa de vârstă, ^b procent pentru toate probele HPV pozitive din grupa de vârstă.

Prevalența globală a citologiei cervicale anormale (ASCUS, LSIL, HSIL) a fost de 19,9%. Cea mai mare prevalență a citologiei cervicale anormale a fost în grupul cel mai tânăr (26,95%) și cea mai scăzută a fost în grupul de 36 până la 45 de ani (17,12%). Tabelul VI prezintă distribuția tipurilor de HPV la femeile infectate în funcție de rezultatul citologic. Prevalența tipurilor HR-HPV prin modificările citologice cervicale a fost calculată indiferent de infecțiile multiple (unul sau mai multe tipuri HR-HPV). Dintre cele 396 de paciente HPV pozitive, 121 de cazuri (30,55%) au avut citologie anormală. 96 din 199 (48,24%) femei cu citologie anormală au fost infectate cu tipuri HR-HPV, în timp ce mai puțin de 3% dintre ele au fost infectate doar cu tipuri LR-HPV.

Tabelul VI. Distribuția tipurilor de HPV la femeile infectate după rezultatul citologic.

| | NILM | ASCUS | LSIL | HSIL | Total (%) |
|-----------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| HPV negativ | 526 (87.08%) ^d | 51 (8.44%) ^d | 19 (3,15%) ^d | 8 (1,32%) ^d | 604 (60,4%) ^t |
| HPV pozitiv | 275 (69.44) ^d | 57 (14.4) ^d | 37 (9.34%) ^d | 27 (6.81%) ^d | 396 (39,6%) ^t |
| Infecția cu o singură tulpină HPV | 130 (76,5%) ^d | 23(13,5%) ^d | 7 (4.11%) ^d | 10 (5,88%) ^d | 170 (42.93%) ^c |
| Coinfecția HPV | 145 (64.16%) ^d | 34 (15.04%) ^d | 30 (13.27%) ^d | 17 (7,5%) ^d | 226 (57.07%) ^c |
| Toate HR-HPV | 194 (66,9%) ^d | 45 (15,5%) ^d | 30 (10.34%) ^d | 21 (7.24%) ^d | 290 (73.23%) ^c |
| HPV-16 | 60 (58.25%) ^d | 19 (18.44%) ^d | 13 (12.62%) ^d | 11 (10.68%) ^d | 103 (26.01%) ^c |
| HPV-18 | 21 (61.76%) ^d | 6 (17.64%) ^d | 5 (14,7%) ^d | 2 (5,8%) ^d | 34 (8.58%) ^c |
| PHR-HPV | 52 (70.27%) ^d | 14 (18.92%) ^d | 3 (4,05%) ^d | 5 (6,75%) ^d | 74 (18.68%) ^c |
| LR-HPV | 122 (73,5%) ^d | 19 (11.45%) ^d | 15 (9.03%) ^d | 10 (6.02%) ^d | 166 (41.92%) ^c |
| Numai LR-HPV | 38 (86.36%) ^d | 3 (6,8%) ^d | 2 (4,54%) ^d | 1 (2,27%) ^d | 44 (11.11%) |
| UR-HPV | 59 (68,6%) ^d | 11 (12,8%) ^d | 7 (8,14%) ^d | 9 (10,5%) ^d | 86 (21.71%) ^c |
| | 801 (80,1%) ^t | 108 (10,8%) ^t | 56 (5,6%) ^t | 35 (3,5%) ^t | 1000 (100%) ^t |

RR – risc ridicat, PHR – risc probabil ridicat, LR – risc scăzut, UR – risc nedeterminat, NILM – negativ pentru leziuni intraepiteliale sau malignitate, ASCUS – celule scuamoase atipice cu semnificație nedeterminată, LSIL – leziune scuamoasă intraepitelială de grad scăzut, HSIL – leziune intraepitelială de grad înalt.

^t procentaj din total, ^c procent pentru toate probele pozitive, ^d procent pentru toate probele pozitive din grupul de infecție.

Prevalența ASCUS, LSIL și HSIL a fost de 15,5%, 10,34% și 7,24% la pacientele infectate cu tipuri HR-HPV și 6,8%, 4,54% și, respectiv, 2,27% la pacienții infectați doar cu tipuri LR-HPV. Prevalența tipurilor HR-HPV în rândul probelor HPV pozitive a fost de 78,9%, 81,08% și 77,7% la pacienții cu ASCUS, LSIL și, respectiv, HSIL. În grupul HPV pozitiv, odds ratio pentru detectarea citologiei anormale a fost de 3,62 (CI 95%; 1,49 - 8,8) pentru pacientele HR-HPV pozitive în comparație cu pacientele infectate doar cu tipuri LR-HPV ($p < 0,005$). La femeile infectate cu HPV-16 sau HPV-18 a fost observată cea mai mare prevalență a anomaliilor citologice cervicale (tabelul VI). Rata de coinfecție cu HPV la femeile cu citologie

anormală a avut un vârf pentru LSIL (81,08%) și a scăzut de la ASCUS la HSIL (66,67% până la 62,96%) (Moga, et al., 2014).

Discuții

Rolul oncogen al HPV a devenit evident în declanșarea CC (Walboomers, et al., 1999). În rândul femeilor asimptomatice, prevalența infecției cu HPV variază între 2 și 44% (Trottier, et al., 2006). Până în prezent, au fost identificate 15 tipuri de oncogene HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 și 82) considerate cu risc ridicat pentru CC (Meijer, et al., 2006).

În populația studiului nostru, prevalența globală a infecțiilor cu orice tip de HPV (39,6%) și prevalența HR-HPV (29%) au fost mai mari în comparație cu alte studii (Masia, et al., 2009; Lee & Um, et al., 2012). Cele mai răspândite șase tipuri de HR-HPV au fost HPV-16, 31, 51, 18, 52 și 58 în ordine descrescătoare. Aceste șase cele mai comune genotipuri HR-HPV au reprezentat 34,71% din toate genotipurile HPV (284 din 818 infecții cu HPV) și 68,1% din toate genotipurile HR-HPV (284 din 417 infecții cu HR-HPV). Rezultatele noastre privind prevalența infecției cu HPV-16 (26,01%) au fost, de asemenea, mai mari decât cele raportate la nivel mondial (Clifford, et al., 2005; Masia, et al., 2009). Ratele prevalenței la nivel mondial a infecțiilor cu HPV-16 tind să fie mai mari decât cele observate pentru alte tipuri de HPV (Trottier, et al., 2006). Al doilea cel mai frecvent genotip HR-HPV a fost HPV-31 (12,26%), spre deosebire de HPV-18 în Europa, America Centrală și de Sud, HPV-52 și 58 în Asia și HPV-52 și 53 în America de Nord (Clifford, et al., 2005; De Sanjosé, et al., 2010). Aceste diferențe în distribuția tipului de HPV în diferite zone geografice pot fi legate de obiceiuri sexuale diferite și de migrații ale populației (Bazon, et al., 2008). Conform celor mai multe studii, ratele de prevalență, cu estimări diferite, sunt în general mai mari pentru tipurile HR-HPV decât pentru tipurile LR-HPV (Smith, et al., 2008). În studiul nostru, 73,23% dintre femeile infectate au prezentat tipuri HR-HPV similare celor mai multe studii bazate pe populație în care tipurile HR-HPV au fost detectate la mai mult de 70% dintre toate femeile HPV pozitive (Moga, et al., 2014). Coinfecția cu mai multe tipuri de HPV a fost observată în 57,07% din cazuri în majoritatea acestor combinații fiind prezent un HR-HPV. Prevalența infecțiilor cu multiple tulpini HPV a arătat o variație geografică variind de la aproximativ 9% până la 50% în țările europene (Forslund, et al., 2002). Riscul de a dobândi noi tipuri de HPV pare să fie independent de infecția anterioară cu alte tipuri (Trottier, et al., 2006).

Conform rezultatelor noastre infecția cu HPV este cea mai frecventă la femeile cu vârsta sub 25 de ani, apoi a fost observată o nouă creștere ușoară a prevalenței infecției cu HPV la femeile cu vârsta peste 45 de ani (Moga, et al., 2014). Majoritatea studiilor epidemiologice oferă dovezi că infecția genitală cu HPV este foarte frecventă la femeile tinere active sexual, cu prevalențe de până la 76-80% (Weinstock, et al., 2004; Brown, et al., 2005). Apoi am observat o scădere treptată a incidenței infecției cu HPV până la vârsta de 45 de ani. Acest model este observat în cele mai multe studii din întreaga lume, deși al doilea vârf este observat uneori la femeile în vârstă (Munoz, et al., 2004; Franceschi, et al., 2006). Această scădere a prevalenței infecției cu HPV odată cu vârsta poate fi explicată prin faptul că, în majoritatea cazurilor, infecția cu HPV este autolimitată și virusul este eliminat de răspunsul imun înăscut al gazdei (Stanley, 2006). În unele cazuri, răspunsul imun nu reușește să îndepărteze infecția iar la subiecții cu infecție persistentă cu tipuri de HR-HPV există riscul de progresie către neoplazie intraepitelială de grad înalt și cancer invaziv a colului uterin (Schlecht, et al., 2001; Snijders, et al., 2006). Infecțiile cu HPV la femeile în vârstă nu par să reprezinte infecții noi, dar sunt infecții de lungă durată care necesită mai multă atenție și o urmărire mai atentă din cauza riscului crescut de CC legat de durata lungă a infecției (Massia, et al., 2009).

A fost observată o tendință de creștere a prevalenței generale a infecției cu HPV, precum și a prevalenței HR-HPV, în paralel cu creșterea gradului anomaliei citologice cervicale. Aproximativ 60,8% dintre femeile cu un examen citologic pozitiv (incluzând ASCUS, LSIL și HSIL) au fost infectate cu HPV și peste 28,64% dintre ele au fost infectate cu un tip HR-HPV. Prezența crescută a genotipurilor HR-HPV în leziunile precanceroase subliniază necesitatea unei urmăriri mai frecvente la femeile care sunt HR-HPV pozitive (Moga, et al., 2014). Cu toate acestea, genotiparea HPV nu este suficientă pentru screeningul CC, deoarece testul a fost negativ la 39,2% dintre pacienții cu citologie anormală și, prin urmare, urmărirea HPV ar fi ratat aproape 40% dintre femeile HPV negative cu un rezultat anormal al testului Papanicolau, rezultat care impune o urmărire citologică. De asemenea, s-a observat o proporție semnificativ mai mare a citologiei anormale în rândul femeilor infectate cu HPV-16 sau HPV-18, genotipuri HPV care sunt incluse în vaccinurile existente. Din studiul nostru rezultă că utilizarea vaccinurilor care conțin genotipurile HPV-16 și HPV-18 ar preveni doar 20,7% din infecțiile cu HPV ale femeilor sub 25 de ani. Totuși, prevalența anomaliilor citologice cervicale în rândul femeilor infectate cu

tipuri HR-HPV, altele decât HPV-16 sau HPV-18, rămâne crescută. Multe studii au raportat că riscul de a dezvolta anomalii citologice sau leziuni care preced de obicei CC este mult mai mare la femeile infectate cu multiple genotipuri ale HPV (Fife, et al., 2001; Bello, et al., 2009). Rata coinfecție cu multiple tipuri HPV la femeile cu citologie anormală a avut un vârf pentru LSIL și a scăzut de la ASCUS la HSIL. În majoritatea studiilor similare, cea mai mare rată de coinfecție a fost raportată la femeile cu citologie cervicală ASCUS (Castellsagué, et al., 2001) sau LSIL (Herrero, et al., 2000).

Este evident că detectarea precoce a CC și tratarea infecției cu HPV în stadii incipiente poate reduce foarte mult decesul prin CC. Astfel, este absolut necesară o politică coerentă privind răspândirea gradului de conștientizare privind infecția cu HPV, care poate opri creșterea incidenței CC prin detectarea infecției în stadiu incipient, facilitând un management mai bun al pacientelor. Datele noastre sugerează necesitatea integrării atât a genotipării ADN-ului HPV, cât și a testului Papanicolau, utilizarea complementară a celor două teste oferind o evaluare atât a riscului virusologic, cât și a riscului citologic.

Concluzii

Studiul nostru a subliniat faptul că prevalența infecției HR-HPV în rândul femeilor din România este mai mare în comparație cu alte zone geografice. Astfel, considerăm că în zonele în care există o prevalență crescută a infecțiilor cu HR-HPV, genotiparea HPV trebuie efectuată la toate femeile cu vârsta cuprinsă între 18 și 45 de ani, iar testul Papanicolau trebuie efectuat la fiecare 6 luni la femeile infectate cu HR-HPV chiar și la cele cu citologie cervicală anterioară normală. Prevalența mai mare a anomaliilor citologice cervicale la femeile infectate cu tipuri de HR-HPV care nu au fost vaccinate anti-HPV ar trebui avute în vedere în viitoarele programe de imunizare. Cu toate acestea, rezultatele noastre au unele limitări, dat fiind că pacientele incluse în studiu sunt femei care au accesat ambulatoriul de ginecologie pentru diferite simptome genitale, iar rezultatele de prevalență prezentate în acest studiu ar putea supraestima incidența cumulativă a infecției cu HPV, prin urmare sunt necesare alte studii epidemiologice mai largi (Moga, et al., 2014).

Bulletin of the *Transilvania University of Braşov*
Series VI: Medical Sciences • Vol. 13(62) No. 2 – 2020
<https://doi.org/10.31926/but.ms.2020.62.13.2.5>

RISK FACTORS AND AETIOLOGICAL AGENTS OF URETHRITIS IN MEN WITH URETHRITIS IN BRAŞOV COUNTY

Marius IRIMIE^{1*}

Irimie M. Risk Factors and Aetiological Agents of Urethritis in Men with Urethritis in Braşov County. *Bulletin of the Transilvania University of Brasov, Series VI: Medical Sciences* 2020; vol. 13 (63) No. 2: 37-42.

Uretrita este o cauză frecventă de prezentare a bărbaţilor la clinicile specializate venerologie. Uretrita este un sindrom clinic care se prezintă de obicei cu prurit uretral, disurie și, cu frecvență variabilă secreție uretrală, dar poate fi asimptomatică. Deși există și alte situații în care apar iritațiile uretrale, termenul de uretrită este rezervat inflamației uretrale cauzate de o ITS. În mod tradițional, pe baza etiologiei sale, uretritele sunt împărțite în uretrite gonococice (UG) și uretrite non-gonococice (NUG) cele din urmă fiind cauzate de infecțiile cu *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis* sau *Ureaplasma urealyticum* (Terris, 2020). Alte infecții rare care cauzează uretrită includ virusul herpes simplex tip 1 și 2, adenovirusul, limfogranulomul venerean, sifilisul, infecția micobacteriană și infecțiile bacteriene (de obicei bacili gram-negativ) (Terris, 2020).

În ciuda tuturor progreselor medicinei, ITS reprezintă o problemă gravă de sănătate publică, în special în rândul populației tinere de toate gradele sociale. Scopul studiului a fost de a evalua factorii de risc și agenții patogeni etiologici ai uretritei la bărbați în județul Braşov.

Pacienți și metode

Acest studiu retrospectiv a fost realizat în Clinica Medlife-PDR din Braşov, România, din ianuarie 2016 până în noiembrie 2020. Au fost incluși în studiu 111 bărbați cu vârsta cuprinsă între 17 și 78 de ani (vârsta medie 34,5±10,26) prezentând disurie, disconfort micțional și/sau secreții uretrale. Pacienții au fost împărțiți în 4 grupe în funcție de vârstă. Au fost excluși contactii asimptomatici și cei cu simptome non-uretrale. Datele colectate de la toți participanții la studiu au inclus orientarea sexuală,

numărul de parteneri sexuali în ultimele 6 luni, antecedente de ITS, antecedente de uretrită, statusul marital, perioada de incubație a uretritei, simptome de uretrită, istoricul și durata simptomelor, orice anomalie la examinarea genitală, precum și diagnosticele microbiologice. Studiul a fost realizat cu acordul comisiei de etică instituțională.

De la fiecare pacient a fost prelevată câte o probă de secreție uretrală. În situațiile în care secreția uretrală nu a fost observată spontan, s-a exercitat o ușoară presiune asupra uretrei pentru a confirma prezența acesteia. S-a recoltat un mostră de secreție uretrală pentru efectuarea examenelor microscopice colorate Gram și Giemsa. Un diagnostic de UG a fost confirmat prin prezența diplococilor intracelulari Gram negativi, în timp ce NUG a fost diagnosticat prin absența lor, dar prezența a 5 sau mai multe leucocite polimorfonucleare pe un câmp microscopic. Rezultatul pozitiv al infecției cu *T. vaginalis* a fost definit ca prezența unuia sau mai multor trichomonași cu morfologie caracteristică și motilitate sacadată. Altă mostră de secreție uretrală a fost colectată pentru efectuarea testelor de amplificare a acizilor nucleici pentru *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *Mycoplasma spp.* și *Ureaplasma spp.* De asemenea, au fost efectuate examenul sumar de urină și urocultura. La toți pacienții au fost recoltate probe de sânge pentru detectarea infecției simultane cu sifilis, HIV și hepatită B.

Caracteristicile subiecților de studiu au fost prezentate ca medie \pm deviație standard pentru variabilele continue și ca frecvență pentru variabilele categoriale.

Rezultate

Majoritatea pacienților (78,38%) au fost în grupele de vârstă 21-30 și 31-40 de ani. Caracteristicile comportamentului sexual derivate din anamneză au fost: 36,94% dintre pacienți erau căsătoriți, 17,12% locuiau în concubinaj și 45,94% erau necăsătoriți. Majoritatea bărbaților cu uretrită aveau studii medii (64,86%), în timp ce 27,03% aveau studii superioare și doar 8,1% aveau studii primare. În ceea ce privește orientarea lor sexuală, 109 (98,2%) subiecți erau heterosexuali și doar 2 pacienți (1,8%) au recunoscut relații homosexuale. 105 (94,6%) bărbați au avut mai mult de un partener sexual în ultimele 6 luni, cei mai mulți întreținând act sexual ocazional sau sex comercial. Doar 7 (6,3%) dintre ei aveau antecedente de uretrită, iar 17 (15,32%) aveau antecedente de alte ITS. 109 (98,2%) dintre ei nu au folosit prezervativ în timpul contactului sexual infectant. Ceilalți 2 bărbați (1,8%) care au folosit un

prezervativ pentru actul sexual genital au fost expuși fără prezervativ la actul sexual orogenital (tabel VII).

Tabelul VII - Caracteristici comportamentale, demografice și sexuale

| Factori de risc | | n=111 (%) |
|--|--------------|------------|
| Vârsta (ani) | < 20 | 3 (2.7) |
| | 21-30 | 45 (40.54) |
| | 31-40 | 42 (37.84) |
| | > 40 | 21 (18.92) |
| Status marital | Căsătoriți | 41 (36.94) |
| | Concubinaj | 19 (17.12) |
| | Necăsătoriți | 51 (45.94) |
| Orientare sexuală | Heterosexual | 109 (98.2) |
| | Homosexual | 2 (1.8) |
| | Bisexual | 0 (0) |
| Educație | Primar | 9 (8.1) |
| | Secundar | 72 (64.86) |
| | Superior | 30 (27.03) |
| Număr de parteneri sexuali în ultimele 6 luni | 1 | 6 (5.4) |
| | 2 | 67 (60.36) |
| | >2 | 38 (34.23) |
| Utilizarea prezervativului | Da | 2 (1.8) |
| | Nu | 109 (98.2) |
| Istoric de uretrită | Da | 7 (6.3) |
| | Nu | 104 (93.7) |
| Istoric de ITS | Da | 17 (15.32) |
| | Nu | 94 (84.68) |

Tabelul VIII – Agenții etiologici ai uretritei

| Agent etiologic | n=111 (%) |
|---|------------|
| <i>N. gonorrhoeae</i> | 18 (16.22) |
| <i>C. trachomatis</i> | 39 (35.14) |
| <i>N. gonorrhoeae</i> + <i>C. trachomatis</i> | 1 (0.01) |
| <i>Mycoplasma spp.</i> | 5 (4.5) |
| <i>Ureaplasma spp.</i> | 30 (27.03) |
| <i>Trichomonas vaginalis</i> | 6 (5.4) |
| Alții | 11 (9.9) |
| Neidentificat | 1 (0.01) |

Agenții etiologici ai uretritei identificați în urma investigațiilor de laborator sunt prezentați în Tabelul VIII. *N. gonorrhoeae* a fost identificat ca agent cauzal la 18 (16,22%) pacienți cu uretrită, *C. trachomatis* la 39 (35,14%) pacienți, *N. gonorrhoeae* și *C. trachomatis* la 1 pacient (0,01%), *Mycoplasma*

spp. la 5 (4,5%) pacienți, *Ureaplasma spp.* la 30 (27,03%) pacienți, *Trichomonas vaginalis* la 6 (5,4%) pacienți. La un pacient a fost identificată o infecție concomitentă cu *N. gonorrhoeae* și *C. trachomatis* (0,01%). La 12 pacienți (9,9%) au fost identificați alți agenți infecțioși: *Klebsiella spp.* (2,7%), *Staphylococcus aureus* (2,7%), *Escherichia coli* (1,8%), *Haemophilus parainfluenzae* (0,01%), *Candida spp.* (1,8%). Într-un caz, agentul etiologic al uretritei nu a putut fi identificat (0,01%).

Forma clinică de prezentare a fost uretrita acută la 30 pacienți (27,03%), uretrita subacută la 34 pacienți (30,63%) și uretrita cronică la 47 pacienți (42,34%). Caracteristicile clinice în funcție de agenții patogeni etiologici sunt prezentate în Tabelul IX. Infecția cu *N. gonorrhoeae* a cauzat în principal uretrită acută (88,89%) iar infecția cu *C. trachomatis* prezentându-se ca uretrită acută la 4 pacienți (10,26%), ca uretrită subacută la 15 pacienți (38,46%) și uretrită cronică la 20 pacienți (51,28%).

Tabelul IX – Caracteristici clinice în funcție de agenții etiologici

| | <i>N. gonorrhoeae</i> n=18 (%) | <i>C. trachomatis</i> n=39 (%) | <i>Mycoplasma spp.</i> n=5 (%) | <i>Ureaplasma spp.</i> n=30 (%) | <i>T. vaginalis</i> n=6 (%) | Unknown n=12 (%) |
|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| Forma clinică de urerită: | | | | | | |
| - Acută | 16 (88.89) | 4 (10.26) | 0 (0) | 0 (0) | 3 (50) | 6 (50) |
| - Subacută | 2 (11.11) | 15 (38.46) | 0 (0) | 10 (33.33) | 2 (33.33) | 5 (41.67) |
| - Cronică | 0 (0) | 20 (51.28) | 5 (100) | 20 (66.67) | 1 (16.67) | 1 (8.33) |
| Perioada de incubație (zile±SD) | 3.6±2.71 | 13.96±6.7 | 20.67±2.12 | 26.53±9.78 | 5.6±9.64 | 8.33±7.43 |
| Durata simptomelor (zile±SD) | 3.42±1.89 | 10.1±5.96 | 13.8±6.21 | 20.1±10.8 | 4.33±1.03 | 10.5±9.27 |

Infecțiile cu *Mycoplasma spp.* și *Ureaplasma spp.* au provocat mai des uretrită cronică (100% și respectiv 66,67%). La 3 pacienți (50%) cu infecție cu *T. vaginalis* diagnosticul a fost de uretrită acută.

Debutul simptomelor a fost în medie la 14,9±11,33 zile după actul sexual infecțios. În funcție de agenții etiologici, debutul simptomelor a fost în medie 3,6±2,71 zile după actul sexual în infecția cu *N. gonorrhoeae*, 13,96±6,7 zile pentru infecția cu *C. trachomatis*, 20,67±2,12 zile pentru *Mycoplasma spp.* infecție, 5,6±9,64 zile pentru infecția cu *Trichomonas vaginalis*, 26,53±9,78 zile pentru *Ureaplasma spp.* Prezentarea pacienților la consultația medicală a fost în medie după 11,02±6,7 zile de la debutul simptomatologiei, fiind mai scurtă în cazurile în care simptomele au fost mai intense (Tabelul IX). Trei (2,7%) dintre bărbații din studiul nostru au avut complicații acute: 2 pacienți cu orhiepididimită

acută (unul cu *N. gonorrhoeae* iar unul cu *C. trachomatis*) și 1 (0,01%) cu prostatită (infecție cu *N. gonorrhoeae*).

Discuții

În ciuda progreselor în diagnosticul și tratamentul ureritelor, acestea rămân o problemă globală de sănătate publică la nivel mondial. În fiecare an, în întreaga lume sunt raportate aproximativ 62 de milioane de cazuri noi de UG și 89 de milioane de cazuri noi de NUG, dar probabil ambele tipuri de infecții sunt subraportate (Sexually Transmitted Disease Surveillance, 2017). Promiscuitatea, debutul timpuriu al vieții sexuale, partenerii sexuali multipli, homosexualitatea și antecedentele de ITS sunt cei mai importanți factori care au contribuit la răspândirea acestora (Irimie, 2020). Pacienții cu uretrită au un comportament sexual cu risc mai mare decât populația generală. În grupul de studiu, dobândirea infecției uretrale a fost legată de vârsta relativ tânără, nivelul scăzut de educație, numărul de parteneri sexuali și lipsa folosirii prezervativului. Uretrita poate apărea la orice persoană activă sexual, dar cea mai mare incidență a fost în rândul bărbaților cu vârsta cuprinsă între 21-40 de ani. 94,6% dintre subiecți au avut mai mulți parteneri sexuali în ultimele 6 luni, majoritatea având relații extraconjugale inclusiv sex comercial (Irimie, 2020). Numărul de parteneri sexuali este un factor major de risc și este probabil cel mai studiat marker în măsurarea riscului de apariție a ureritei. Rata ridicată a celor care nu au folosit prezervativ în grupul nostru este cu siguranță un motiv de îngrijorare și reflectă cel mai probabil probleme educaționale. Pacienții cu antecedente de ITS prezintă un risc crescut de a contracta alte ITS concomitente, așa că trebuie menținut un nivel ridicat de suspiciune pentru alte ITS și trebuie efectuate teste pentru sifilis, infecție HIV și hepatită B. Doar o proporție relativ mică dintre pacienții noștri au avut antecedente de ITS. Un pacient a fost diagnosticat cu sifilis secundar și unul cu infecție HIV. Bărbații homosexuali au mai multe șanse să fi contractat ITS, inclusiv uretrita. În cercetarea noastră, doi subiecți au fost declarați homosexuali, ambii fiind diagnosticați cu UG acută.

Dintre toți agenții etiologici ai ureritei, *N. gonorrhoeae* are cea mai mare versatilitate de a dobândi rezistență la substanțele antimicrobiene și o variabilitate antigenică ridicată prin care ocolește mecanismele de apărare ale gazdei (Irimie, 2017). În prezent, prevalența tulpinilor de gonococ care sunt rezistente la antibioticele disponibile, considerate până de curând eficiente (cefalosporine, ciclone,

macrolide, fluorochinolone), este estimată a fi foarte mare ceea ce provoacă o mare îngrijorare (Irimie, 2017).

C. trachomatis a fost mult timp considerată principalul agent etiologic al NUG, 20% până la 50% dintre pacienți fiind pozitivi pentru acest agent infecțios (Moi, et al., 2015). Testarea altor agenți patogeni decât *N. gonorrhoeae* și *C. trachomatis* este controversată și este în general rezervată pacienților cu simptome rezistente sau recurente inexplicabile (Brill, 2010). *Trichomonas vaginalis* poate provoca uretrita și la bărbați, dar este mai dificil de detectat. Recent, *M. genitalium* a câștigat recunoașterea ca agent patogen infecțios care poate fi izolat de la 10% până la 30% dintre pacienții cu NUG (Moi, et al., 2015). Mai multe studii au concluzionat că *M. genitalium* este o cauză frecventă a NUG și că eradicarea sa este asociată cu ameliorarea simptomelor (Richardson, et al., 2020). *Ureaplasma spp.* sunt de obicei identificate la bărbații cu simptome uretrale, dar rolul lor exact ca agent patogen nu a fost pe deplin definit (Beeton, et al., 2019). Definirea *Ureaplasma spp.* ca agent patogen în contextul NUG sau o cauză a infertilității la bărbați rămâne controversată, în mare parte din cauza ratelor istorice ridicate de izolare a acestor bacterii de uretra bărbaților sănătoși. Deși opinia actuală nu este de a recomanda testarea de rutină pentru *Ureaplasma spp.* la bărbații cu uretrită, acest lucru ar trebui recomandat în cazurile în care nu au fost identificați alți agenți patogeni (Irimie, 2020).

Simptomele uretritei apar de obicei de la 2 zile la 2 săptămâni după contactul cu un partener infectat, dar pacientul poate rămâne, de asemenea, asimptomatic. La UG simptomele sunt de obicei acute, cu debut brusc cu disurie și scurgeri purulente uretrale, cu debut în medie după 3 zile după contactul infectant. Intensitatea simptomelor îi determină să caute un tratament curativ precoce. Perioada de incubație a NUG este mai variabilă și este adesea mai lungă (între 2 și 35 de zile), simptomele sunt mai ușoare (subacute sau cel mai adesea cronice) și o durată mai lungă a simptomelor până la inițierea tratamentului. Mulți bărbați cu NUG dezvoltă simptome uretrale în primele 4 zile, astfel încât perioada de incubație nu este un factor de încredere în diagnosticul etiologic (Horner, et al., 2017). De obicei, uretrita nu asociază simptome sistemice (febră, frisoane, transpirații, greață). Dacă există, aceste simptome sugerează infecție gonococică diseminată, pielonefrită, orhiepидidimita sau altă infecție sistemică (Irimie, 2020).

De cele mai multe ori, uretrita se recuperează fără complicații, chiar și fără tratament. Au fost raportate complicații la 1-2% dintre bărbații care suferă de uretrită. Cea mai frecventă complicație raportată este strictura uretrală ca urmare a formării de cicatrici post-inflamatorii. Alte complicații potențiale sunt prostatita, orhiepididimita acută, proctita, infertilitatea, anomaliile spermatozoizilor, infecția gonococică diseminată și sindromul Reiter (Irimie, 2020).

GONOREEA – O BOALĂ NETRATABILĂ ÎN VIITOR?**GONORRHEA - AN UNTREATABLE DISEASE IN THE FUTURE?***Marius Irimie¹*¹ Facultatea de Medicină, Universitatea Transilvania din Braşov
Autor corespondent: **Marius Irimie**, email *marius.irimie@unitbv.ro*

Irimie M. Gonoreea – o boală netratabilă în viitor? *Jurnalul Medical Braşovean.* 2017; 1;4-10.

Gonoreea a rămas o problemă majoră de sănătate publică la nivel mondial. Promiscuitatea și precocitatea debutului vieții sexuale reprezintă factorii principali care au favorizat răspândirea ITS. Numărul real al cazurilor de gonoree este cel mai probabil subraportat, în special din medii cu resurse puține, din cauza diagnosticării scăzute, a lipsei testelor de laborator și raportării incomplete a cazurilor. În absența unui vaccin gonococic, pilonul de bază în controlul răspândirii gonoreei se bazează în totalitate pe eforturile de prevenire adecvate și direcționate, notificarea contactilor sexuali, supraveghere epidemiologică, diagnostic și, în special, disponibilitatea unui tratament antimicrobian eficient.

Neisseria gonorrhoeae rezistentă la antibiotice reprezintă o amenințare urgentă pentru sănătatea publică. În țările dezvoltate cu toate că prevalența infecției cu gonococ este în scădere, urmând infecției cu *Chlamydia trachomatis*, tratamentul acestei infecții a devenit o adevărată problemă. Dintre toți agenții etiologici ai ITS tratabile, *N. gonorrhoeae* a dobândit cea mai ridicată capacitate de a deveni rezistență la antibiotice având o variabilitate antigenică mare prin care ocolește mecanismele de apărare ale organismului gazdă (Unemo, et al., 2014). Actualmente se estimează o prevalență în creștere a tulpinilor de *N. gonorrhoeae* cu rezistență la majoritatea antibioticelor utilizate până în prezent (sulfonamidele, penicilinele, cefalosporinele, ciclilinele, macrolidele și fluorochinolonele). Raportarea tot mai frecventă a eșecului tratamentului cu cefalosporinele cu spectru larg (ceftriaxonă, cefiximă) și emergența unor sușe de *N. gonorrhoeae* care prezintă o rezistență clinică apreciabilă la majoritatea cefalosporinelor, asociată cu rezistența la majoritatea celorlalte antibiotice existente, creează o îngrijorare tot mai mare.

În acest review am dorit să analizăm istoria și evoluția protocoalelor de terapie ale infecției gonococice și rezistența dobândită în decursul timpului a gonococului la aceste terapii, precum și tipurile rezistenței *N. gonorrhoeae* la antimicrobienele utilizate în trecut și în prezent.

Sulfonamidele

Sulfonamidele, precum sulfathiazolul, sulfamethoxazolul, sulfapyridina, vizează enzimele bacteriene dihidropteroat-sintaza (DHPS), pentru a inhiba sinteza acidului folic. Ele au fost primele substanțe antimicrobiene introduse pentru terapia gonoreei începând cu mijlocul anilor 1930 și având o rată de vindecare de 80-90% (Kampmeier, 1983). Dar, după 1944, tot mai multe lucrări au raportat rezistența clinică a unor sușe de gonococ, iar până la finalul anilor '40, peste 90% dintre tulpinile de *N. gonorrhoeae* au dobândit rezistența *in vitro* la sulfonamide. Rezistența la sulfonamide se poate datora suprasintezei acidului p-aminobenzoic sau modificărilor genei folP care codifică DHPS-ul țintă al medicamentului (Swedberg, et al., 1993). Cu toate acestea, sulfonamidele, îndeosebi sulfametoxazolul în asociere cu trimetoprimul, au continuat să fie recomandate timp de mulți ani în mediile sociale defavorizate datorită costului lor scăzut (Irimie, 2014).

Peniciline

Primele utilizări ale penicilinei în infecțiile gonococice (uretrita gonococică, oftalmia gonococică) au fost documentate în anii 1940, inițiind astfel o nouă etapă în terapia gonoreei și înlocuind în scurt timp sulfonamidele (Wainwright, et al., 1986). Cu toate că eficiența penicilinei G era inițial de 95%, în timp, ca urmare a achiziției unor factori cromozomiali determinanți de rezistență de către *N. gonorrhoeae*, dozele necesare de penicilină G au trebuit crescute progresiv pentru a obține vindecarea. Astfel, în anul 1946 au fost raportate primele 4 cazuri de infecții gonococice rezistente la doze crescute de penicilină G (Unemo, et al., 2014). Cu toate că în următoarele două decenii s-a observat o creștere continuă a rezistenței sușelor de *N. gonorrhoeae* la penicilină, penicilina G a continuat să fie un agent antimicrobian util pentru terapia infecțiilor gonococice timp de mai multe decade (Amies, 1967).

Apariția unor sușe de gonococ originare din Asia de Sud-Est și Africa de Vest sub-sahariană care prezentau două tipuri de plasmide codificatoare de β -lactamaze, au întărit teama că eficiența

penicilinei se va sfârși în scurt timp (Phillips, 1976). Diseminarea rapidă a acestor sușe rezistente la nivel global a condus la renunțarea la penicilină ca primă linie de tratament o decadă mai târziu.

Cicline

Inițial ciclinele au fost folosite la pacienții cu infecție gonococică alergici la penicilină. Dar în timp, datorită achiziției unor factori cromozomiali determinanți de rezistență, CMI a tetraciclinei împotriva gonococului a crescut, astfel încât la mijlocul anilor 1980 apariția determinantului *tetM* pe plasmida de conjugare care inducea rezistența crescută la cicline a condus la excluderea acestora din protocoalele de tratament ale infecțiilor gonococice (Spiteri, et al., 2013).

Aminoglicozide

Primul aminoglicozid care a început să fie utilizat ca tratament specific al gonoreei la începutul anilor 1960 a fost spectinomina. După dobândirea rezistenței la penicilină, spectinomina a fost utilizată adesea pentru terapia unor astfel de cazuri (Easmon, et al., 1984). Foarte curând, în 1967 au început să fie raportate primele cazuri de rezistență la spectinomina (Amies, 1967). Spectinomina a fost introdusă în ghidurile de terapie ale infecției gonococice ca primă linie în 1981. După doar câțiva ani de folosire rata clinică de eșec a tratamentului a fost de 8,2% (Boslego, et al., 1987). Ulterior, s-a renunțat la nivel internațional la utilizarea spectinominei ca monoterapie empirică pentru infecția gonococică. Actualmente rezistența este rară prin faptul că nu a mai fost recomandată de mult timp dar pe de altă parte spectinomina a devenit indisponibilă în multe țări (Irimie, 2014).

Unele ghiduri specifică kanamicina ca o posibilă alternativă de tratament a infecției gonococice, un aminoglicozid la care rezistența *in vitro* este scăzută. Un avantaj al aminoglicozidelor, precum spectinomina și kanamicina este că, spre deosebire de penicilină, nu acționează pe *Treponema pallidum* și prin urmare nu maschează diagnosticul unui lues concomitent (Shapiro, et al., 1970). Pentru prima dată kanamicina a fost utilizată în terapia infecției gonococice în 1958 (Irimie, 2014). Ototoxicitatea și nefrotoxicitatea kanamicinei au exclus utilizarea ei în prezent, astfel încât kanamicina nu mai este disponibilă actualmente.

Fluorochinolone

Dintre fluorochinolone, au fost utilizate pentru terapia infecției gonococice ciprofloxacina și ofloxacina, dar îndeosebi ciprofloxacina a fost recomandat la scară largă în a doua jumătate a anilor 1980. La început, ciprofloxacina a fost utilizată în doze reduse de 250 mg/zi dar eșecul tratamentului a început să apară la începutul anilor 1990 (Gransden, et al., 1990) și prin urmare doza a trebuit a fi crescută la 500 mg/zi, dar și la acest dozaj a apărut rezistența și s-a extins rapid pornind din regiunea Asiei și Pacificului de Vest (Tanaka, et al., 2000). Ulterior, tulpinile de *N. gonorrhoeae* rezistente la ciprofloxacina au fost rapid extinse la nivelul întregii lumi sau s-au dezvoltat independent (Unemo, et al., 2014). Din anul 2007 fluorochinolonele au și fost complet excluse din ghidurile de tratament (CDC, 2007). Actualmente frecvența rezistenței gonococului la fluorochinolone se menține crescută în întreaga lume (Unemo & Nicholas, et al., 2012).

Macrolide

Din start, atât rezultatele *in vivo* cât și cele *in vitro* au indicat că eritromicina nu pare destul de eficientă pentru terapia infecției gonococice, dar pe de altă parte azithromycina, produsă în 1980, are o eficacitate net superioară. Cu toate acestea a fost semnalată o reducere a sensibilității și apariția rezistenței gonococului la azithromycină începând cu cea de-a doua jumătate a anilor 1990, (Starnino, et al., 2012). Treptat, rezistența la azithromycină a apărut și extins în tot mai multe țări, îndeosebi în zonele unde azithromycina era recomandată frecvent pentru tratamentul simultan al infecțiilor concomitente cu *N. gonorrhoeae* și *C. trachomatis* (Dillon, et al., 2013). Chiar dacă mai este folosită și în prezent în unele țări, azithromycina a fost abandonată ca monoterapie empirică a infecției gonococice, pe de o parte datorită selecției rapide a tulpinilor rezistente, iar pe de altă parte datorită reacțiilor secundare ale administrării azithromycinei în doză unică de 2 g (Chisholm, et al., 2012).

Cefalosporine

După renunțarea la tratamentul cu fluorochinolone, locul acestora a fost preluat de cefalosporine care au devenit cele mai recomandate la nivel internațional pentru terapia infecției gonococice. Cefalosporinele de generația a treia au fost cele mai utilizate: ceftriaxona (injectabil) și cefixima (oral) (Newman, et al., 2007). Alte cefalosporine care pot fi administrate oral sunt: cefditoren

și celdinir (Japonia), cefuroxime (UE), cefpodoxime (USA) și ceftibuten (Hong Kong), dar niciuna dintre ele nu au avut eficiență superioară ceftriaxonei și cefiximei (Unemo, et al. 2014). Numeroase regimuri de tratament în monoterapie cefalosporine orale au fost propuse de-a lungul timpului, dar inclusiv unele utilizând concentrații subinhibitorii ceea ce a favorizat selectarea unor tulpini de *N. gonorrhoeae* rezistente (Chisholm, et al., 2010). În ultimele trei decenii au fost raportate în Japonia primele cazuri de rezistență gonococică la cefiximă (CMI \geq 0.5 μ g/ml) și ceftriaxonă (CMI \geq 0.5 μ g/ml), care treptat au ajuns la 30,2% și respectiv 0,9%. Din 2006 toate cefalosporinele orale au fost excluse din ghidurile de tratament ale gonoreei în Japonia (Japanese Society of Sexually Transmitted Infection, 2011). Ulterior, tulpinile de gonococ cu sensibilitate scăzută sau rezistență la cefalosporine s-au răspândit în întreaga lume (Li, 2012; Unemo, et al. 2014; Irimie, 2014; Wind, et al., 2017). Prevalența reală a rezistenței *N. gonorrhoeae* la cefalosporine este numai parțial cunoscută, pentru că testarea sensibilității gonococului este foarte redusă în multe zone ale lumii, inclusiv în România (Irimie, 2014). Ceea ce îngrijorează și mai mult este faptul că au fost raportate situații de infecție cu tulpini XDR (Extensively-drug resistant *N. gonorrhoeae*) care au o rezistență crescută la toate cefalosporinele, la care se adaugă rezistența la majoritatea celorlalte antibiotice disponibile în Japonia (Ohnishi, et al., 2011), Franța (Unemo & Golparian, et al., 2012) sau în Spania (Cámara, et al., 2012). Cum în prezent ceftriaxona este ultima opțiune ca monoterapie empirică de primă linie în infecția gonococică, recrudescența sușelor XDR ar putea presupune începerea unei noi ere în care gonoreea devine imposibil de tratat cu un antibiotic în monoterapie.

Ca urmare a acestei situații, au fost propuse în toată Europa (Bignell, et al., 2013), Statele Unite ale Americii, Canada (CDC, 2012), noi recomandări pentru infecția gonococică necomplicată cu localizare anogenitală și faringiană de a folosi protocoale de terapie cu două antibiotice. Aceste protocoale propun ceftriaxona în doză unică de 250 mg sau 500 mg administrată intramuscular, fie simultan cu azithromycină în doză unică de 1 sau 2 g administrată oral, fie cu doxiciclină în doză de 2x100 mg oral timp de 7 zile, protocol care va trata și eventuala infecție concomitentă cu *C. trachomatis* (CDC, 2012; Bignell, et al., 2013; Public Health Ontario, 2013). Aceste ghiduri duale de antibioterapie se dovedesc eficiente în prezent și li se menține recomandarea de a fi utilizate.

În aceste condiții, Organizația Mondială a Sănătății a propus un plan de măsuri pentru scăderea diseminării sușelor de gonococ multirezistente prin raportarea cazurilor de infecție cu aceste tulpini și a eșecurilor de tratament, și a supravegherii trendului rezistenței la substanțele antimicrobiene (Irimie, 2014). Din nefericire planul de măsuri propus de OMS este aplicat sporadic sau incomplet în unele zone ale lumii (America Latină, Asia Centrală, Africa, Europa Centrală), regiuni care de altfel se și confruntă cu o prevalență ridicată a infecției gonococice, circumstanțe care stau la baza apariției și răspândirii tulpinilor de *N. gonorrhoeae* multirezistente (Irimie, 2014). Prin urmare în aceste regiuni ale lumii este absolut necesară realizarea sistematică a culturilor și antibiogramelor. Dar acest lucru necesită politici guvernamentale coerente de sănătate publică și finanțarea corespunzătoare a infrastructurii de laborator și a formării personalului. Aceste politici de sănătate publică ar trebui să eficientizeze măsurile de prevenție primară, de diagnostic, de depistare a contactilor, de tratament și supraveghere epidemiologică a cazurilor de infecție cu *N. gonorrhoeae*. Nu trebuie neglijată depistarea consecventă și tratarea purtătorilor faringieni asimptomatici de *N. gonorrhoeae*. Mai mult, ar trebui intensificate și urgentate eforturile de cercetare pentru identificarea unor noi antibiotice pentru terapia infecției gonococice.

Noi perspective terapeutice

Un trial multicentric randomizat recent a evaluat regimurile de tratament duale asociind gentamicina 240 mg în doză unică administrată intramuscular plus azithromycina în doză unică orală de 2 g, și gemifloxacină în doză unică orală de 320 mg plus azithromycina în doză unică orală de 2 g ca opțiuni alternative de terapie a infecției gonococice necomplicate, în cazurile cu rezistență la cefalosporine. Clearance-ul bacterian a fost raportat la 100% din cei care au primit regimul de terapie cu gentamicină plus azithromycina, și de 99,5% la cei care au primit gemifloxacin plus azithromycina. Din păcate, la ambele regimuri antimicrobiene reacțiile adverse au fost relativ numeroase (Kirkcaldy, 2013).

Susceptibilitatea la gentamicină *in vitro* a gonococului în Europa se menține ridicată (Chisholm, et al., 2011; Brittain, et al., 2016), cu o rată de vindecare de 91,5% la administrarea în doză unică (Dowell, et al., 2013). Solithromycina, un fluoroketolid cu administrare orală în doză de 1,2 g s-a dovedit a avea o eficacitate crescută *in vitro* pe *N. gonorrhoeae*, incluzând pe sușele XDR, dar pe de altă parte sușele

care au o rezistență ridicată la azithromycină sunt rezistente și la solithromycină (Golparian, et al., 2012). Ertapenemul are de asemenea o eficiență înaltă *in vitro* contra gonococilor, chiar și asupra tulpinilor multirezistente (Unemo & Golparian, et al., 2012). Gentamicina, solithromycina și eventual ertapenemul ar putea reprezenta alternative viitoare pentru terapia gonoreei, dar cel mai probabil nu ca indicație de monoterapie empirică de primă intenție, ci mai degrabă ca terapie pentru cazurile cu rezistență la ceftriaxonă, și/sau ca asociere de antibiotice într-un regim dual.

Tigecyclina este un derivat al tetraciclinei care a arătat *in vitro* o activitate puternică anti-*N. gonorrhoeae*, incluzând și sușele rezistente la tetraciclină. Singura problemă care se pune este dacă activitatea sa antigonococică se exercită și *in vivo* în infecțiile genitale cu gonococ având în vedere că tigecyclina se elimină în principal prin bilă și mai puțin prin urină (Deshpande, et al., 2001; Lee & Kim, et al., 2017). Eravacyclina (TP-434) este o altă ciclină de sinteză care s-a demonstrat că are o activitate *in vitro* crescută pe sușele de *N. gonorrhoeae* rezistente la tetraciclină, penicilină și fluorochinolone (Kerstein, et al., 2013). Dalbavancin este o lipoglycopeptidă de sinteză care are de asemenea o activitate antimicrobiană ridicată asupra gonococului (Koeth, et al., 2013). SM-295291 și SM-369926 sunt doi noi carbapenemi cu spectru larg cu activitate puternică *in vitro* anti-*N. gonorrhoeae*, incluzând tulpinile cu rezistență la ciprofloxacina (Fujimoto, et al., 2013). Avarofloxacina (JNJ-Q2) și delafloxacina sunt două chinolone cu spectru larg, ce au o activitate potentă *in vitro* contra gonococului, inclusiv pe tulpinile cu rezistență la ciprofloxacina (Biedenbach, et al., 2012; Roberts, et al., 2013).

În condițiile în care gonococul a dobândit rezistența la toate antibioticele utilizate pentru tratamentul infecției gonococice în anii 1970-1980, este absolut necesar ca cercetările să nu se axeze exclusiv numai asupra unor derivați mai noi ai unor antibiotice utilizate anterior, ci în special pe substanțe antimicrobiene noi care să acționeze prin mecanisme diferite.

Alte publicații personale pe tema infecțiilor genitale au fost:

- Oanță A, **Irimie Marius**. Syphilitic balanitis of Follmann. *Int J Dermatol*. 2014 Jul; 53(7): 830-1. doi: 10.1111/ijd.12068. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24134463>; ISSN 0011-9059; (IF – 1.312; SRI - 0.856/2014)
- Dobros A, **Irimie Marius**. Orhiepididimita tuberculoasă revelatoare a infecției HIV. *Jurnalul Medical Brașovean* 2010;1:86-88.

1.2. Rezultatele cercetării în domeniul interdisciplinar

Pielea este un organ interdisciplinar, multe dintre bolile cutaneomucoase putând avea manifestări sistemice, iar pe de altă parte manifestările cutaneomucoase putând constitui un marker important pentru o gamă diversă de afecțiuni sistemice. Dermatologia în sine este printre cele mai interdisciplinare specialități medicale ea suprapunându-se cu multe alte domenii de practică și domenii de studiu, inclusiv oncologie, imunologie, alergologie, reumatologie, genetică medicală și chiar inginerie biomedicală. Pe măsură ce înțelegerea legăturilor dintre piele și alte boli s-a adâncit, dermatologia s-a extins mai profund în alte domenii de practică.

În ultimii ani mai multe afecțiuni inflamatorii cutanate, cel mai studiat fiind psoriazisul, nu mai sunt privite doar ca o simplă afecțiune cutanată ci mai degrabă ca afecțiuni inflamatorii sistemice care asociază un exces de disfuncții metabolice și factori de risc cardiovasculari. Se pare că de cele mai multe ori inflamația sistemică este cea care stă la baza relației dintre bolile inflamatorii cutanate și bolile interne.

Bolile inflamatorii mediate imun (IMID) sunt asociate cu o calitate redusă a vieții, un risc crescut de comorbidități somatice și psihiatrice și un statut socioeconomic redus. Printre acestea se numără bolile inflamatorii intestinale, inclusiv colita ulceroasă și boala Crohn, spondilartrita, inclusiv spondilartrita axială, spondilita anchilozantă și artrita psoriazică, psoriazisul și hidrosadenita supurativă. Persoanele cu o IMID au un risc crescut de a dezvolta alte IMID. Etiologia IMID-urilor este doar puțin înțeleasă, dar se știe că constă într-o combinație de susceptibilitate genetică și mecanism imunologic disfuncțional care are ca rezultat o pierdere a toleranței imunologice față de țesuturi specifice, cu o suprapunere considerabilă a implicării organelor între diferitele tipuri de boală. Bolile enumerate mai sus sunt toate asociate cu boli cardiometabolice, malignități, infecții, boli oftalmologice, tulburări psihiatrice și statut socio-economic redus.

În ciuda acestor cunoștințe, există în prezent o serie de provocări în furnizarea de îngrijiri de înaltă calitate pentru pacienții cu apariția concomitentă a mai multor IMID. Aceste provocări includ conștientizarea limitată a altor boli autoimune în rândul pacienților și al personalului medical (HCP); lipsa screening-ului pentru alte boli autoimune; abordare unidisciplinară a îngrijirii; trimitere întârziată

de la un specialist la altul, lipsa consensului în ceea ce privește obiectivele tratamentului și măsurile de rezultat; lipsa de centrare pe pacient; comorbidități nerecunoscute, subdiagnosticate și subtratate; și lipsa unei urmăririi regulate.

Nevoile nesatisfăcute în îngrijirea pacienților cu IMID pot rezulta dintr-o lipsă de centrare pe pacient în abordarea obișnuită monodisciplinară a acestor boli. Ipoteza generală este că o intervenție clinică combinată interdisciplinară va fi mai eficientă decât îngrijirea obișnuită în îmbunătățirea măsurilor de rezultat raportat de pacient și rezultatele clinice și că un screening și un management mai eficient al altor boli și comorbidități autoimune pot fi efectuate într-o acțiune interdisciplinară. În acest sens prezint în continuare cercetările mele privind factorii de risc cardiovascular la pacienții cu afecțiuni inflamatorii cutanate precum psoriazisul și rozaceea.

1.2.1. Factorii de risc cardiovasculari la pacienții cu psoriazis cronic în plăci

Acta Dermatovenerol Croat

2015;23(1):28-35

CLINICAL ARTICLE

Cardiovascular Risk Factors in Patients with Chronic Plaque Psoriasis: A Case-control Study on the Brasov County Population

**Marius Irimie¹, Alexandru Oanță¹, Claudia Alexandrina Irimie²,
Lazslo Gyula Fekete³, Dan Ioan Minea⁴, Alina Pascu⁵**

Irimie M, Oanță A, Irimie CA, Fekete LG, Minea DI, Pascu A. Cardiovascular Risk Factors in Patients with Chronic Plaque Psoriasis: A Case-control Study on the Brasov County Population. *Acta Dermatovenerol Croat.* 2015 Apr;23(1):28-35

Psoriazisul este una dintre cele mai frecvente boli dermatologice, cu o prevalență de aproximativ 1-3% în populația generală (Langley, et al., 2005). Pe lângă manifestările cutanate care afectează aspectele fizice, sociale și psihologice ale vieții pacienților cu psoriazis, la acești pacienți pot apărea constant și alte boli sistemice. Comorbiditățile asociate clasic cu psoriazisul sunt artrita, bolile

inflamatorii digestive (boala Crohn, colita ulceroasă) și tulburările psihiatrice depresive. În ultimii ani, lista comorbidităților s-a extins, incluzând hipertensiunea arterială (HTA), obezitatea, sindromul metabolic (SM), diabetul zaharat (DZ), dislipidemia, care sunt cunoscuți ca factori de risc tradiționali pentru boli cardiovasculare (Mallbris & Akre, et al., 2004; Mallbris & Ritchlin, et al., 2006; Akcali, et al., 2014); dar psoriazisul în sine și tratamentul sistemic al psoriazisului pot stimula și aterogeneza prematură crescând riscul cardiovascular (Dommasch, et al., 2013). În acest studiu ne-am propus să determinăm prevalența factorilor de risc cardiovascular la pacienții cu psoriazis cronic în plăci. În acest sens, am efectuat un studiu prospectiv observațional caz-control.

Materiale și metode

În perioada iunie 2012 – decembrie 2013 au fost incluși în studiu 142 de pacienți cu psoriazis cronic în plăci, cu vârsta cuprinsă între 18 și 82 de ani, 75 bărbați și 67 femei, cu o vârstă medie de $49,51 \pm 18,26$ ani și sex ratio M/F 1,12. De asemenea au fost incluși în lotul de control format din pacienți non-psoriazici 167 de pacienți cu caracteristici de vârstă și sex similare lotului de studiu (cu vârste cuprinse între 18 și 79 de ani; vârstă medie de $47,87 \pm 16,43$ ani, 88 bărbați și 79 femei; sex ratio M/F=1,11). Pacienții din ambele grupuri au fost recrutați dintre pacienții consultați în ambulatoriu sau în secția de dermatologie a Spitalului Județean de Urgență Brașov, România. Pentru evaluarea factorilor de risc cardiovascular în funcție de vârstă, subiecții ambelor grupuri au fost împărțiți în două categorii: sub 50 de ani și peste 50 de ani. Toți pacienții din grupul de psoriazis au avut diagnostic clinic și histopatologic de psoriazis cronic în plăci. Severitatea psoriazisului a fost evaluată prin scorul PASI (Psoriasis Area and Severity Index). Psoriazisul a fost considerat ușor dacă scorul PASI era mai mic de 10 și moderat până la sever dacă PASI era peste 10. De asemenea, au fost colectate date despre vârsta la debutul psoriazisului și terapiile anterioare.

Criteriile de excludere au fost antecedente de insuficiență renală sau hepatică, hipotiroidism și terapia sistemică pentru psoriazis sau medicamente hipolipemiante administrate în ultimele 3 luni înainte de înrolare, pentru a elimina factorii care influențează nivelurile lipidelor serice.

Pentru diagnosticarea comorbidităților, pe lângă un istoric medical amănunțit și examinare clinică, au fost efectuate investigații de laborator. Prelevarea probelor de sânge a fost efectuată a jeun

pentru determinarea trigliceridelor serice, colesterolului total (TC), HDL-colesterolului (HDL-C), LDL-colesterolului (LDL-C) și glucozei plasmatice a jeun (FPG). Testul de toleranță la glucoză orală (TTGO) și determinarea hemoglobinei glicate A1c au fost efectuate suplimentar în cazurile de niveluri anormale ale glicemiei a jeun. Fiecărui pacient i-au fost calculate indicele de masă corporală (IMC) și circumferința taliei. Sindromul metabolic (SM) a fost diagnosticat prin prezența a mai mult de trei dintre criteriile Federației Internaționale de Diabet (IDF, 2014). Fumători au fost definiți fumători actuali care au fumat minim 15 țigări pe zi timp de mai mult de 5 ani. Scorul de risc Framingham (FRS) la 10 ani pentru boala cardiovasculară generală, care include vârsta, sexul, colesterol total, HDL-C, tensiunea arterială sistolică, statutul de fumător și DZ, a fost aplicat pacienților din ambele grupuri. FRS identificat individual a fost considerat ca fiind scăzut (risc <10%), intermediar (risc 10-20%) sau cu risc ridicat (risc >20%) (Irimie, et al., 2015).

Datele au fost înregistrate într-o bază de date a software-ului Microsoft XL și ulterior supuse unei analize statistice descriptive, testul utilizat a fost testul chi-pătrat. Testul t-student a fost folosit pentru a evalua diferențele dintre grupuri. Riscul relativ estimat a fost calculat utilizând parametrul odds ratio (OR). Pragul de semnificație statistică acceptat a fost $p < 0,05$.

Rezultate

Severitatea psoriazisului a fost ușoară (PASI $8,63 \pm 5,43$) la 32 de pacienți (22,54%) și moderată până la severă (PASI $17,28 \pm 11,86$) la 110 pacienți (77,46%). Istoricul de psoriazis a variat de la 6 luni la 38 de ani, cu o medie de $9,62 \pm 6,02$ ani.

Ratele de prevalență a factorilor de risc cardiovascular la pacienții cu psoriazis ușor, psoriazis moderat până la sever și la martori sunt prezentate în tabelul X. A fost observată o prevalență semnificativ mai mare a SM în grupul cu psoriazis 13,4% (12,5% și, respectiv, 14,54% la pacienții cu psoriazis ușor și moderat-sever) comparativ cu martorii 10,77% (OR=1,3; 95% CI: 0,64-2,54, $p=0,032$). Componentele individuale ale SM, cum ar fi circumferința taliei, trigliceridele crescute, HDL-C redus, glicemia bazală modificată și HTA au fost, de asemenea, mai frecvente la cazuri decât la martori. Am observat o prevalență mai mare a obezității la pacienții cu psoriazis (28,87%) comparativ cu martorii (23,35%) (OR=1,33; 95% CI: 0,79-2,22; $p=0,016$). Prevalențele DZ, HTA și fumatului au fost, de

asemenea, semnificativ mai mari în rândul pacienților cu psoriazis decât la martori (OR=1,18, 95% CI: 0,43-3,25, p=0,047; OR=1,18; 95% CI: 0,75-1,86, p= 0,032 și OR=1,5 95% CI: 0,86-2,56, p=0,006, pentru DZ, HTA și respectiv fumat).

Tabel X – Caracteristicile loturilor de studiu

| Characteristics of study population | Psoriasis n=142 | Controls n=167 | P value |
|---|--------------------|-------------------|---------|
| Men/Women | 75/67 | 88/79 | NS |
| Age | | | |
| Mean±SD | 49.51±18.26 | 47.87±16.43 | NS |
| <50 years | 89 (62.67%) | 99 (59.28%) | NS |
| >50 years | 53 (37.33%) | 68 (40.72%) | NS |
| Metabolic syndrome | 19 (13.4%) | 18 (10.77%) | 0.032 |
| Waist circumference (>94 cm in men and >80 cm in women) | 55 (38.73%) | 61 (36.52%) | 0.045 |
| Obesity (BMI≥30 kg/m ²) | 41 (28.87%) | 39 (23.35%) | 0.016 |
| Arterial hypertension (>140/90 mm Hg) | 61 (42.3%) | 65 (38.9%) | 0.032 |
| Triglycerides (≥150 mg/dl) | 37 (26.05%) | 38 (22.75%) | 0.034 |
| Total cholesterol (≥200 mg/dl) | 40 (28.17%) | 40 (23.95%) | 0.026 |
| LDL cholesterol (>100 mg/dl) | 43 (30.28%) | 42 (25.15%) | 0.019 |
| HDL cholesterol (<40 mg/dl in men and <50 mg/dl in women) | 27 (19.01%) | 31 (18.56%) | 0.052 |
| Diabetes mellitus | 8 (5.63%) | 8 (4.8%) | 0.047 |
| Smoking | 36 (25.35%) | 31 (18.56%) | 0.006 |
| 10-year FRS | | | |
| Mean ± SD | 8.36 ± 5.75 | 6.61 ± 4.13 | <0.001 |
| Low (<10%) | 112 (78.87%) | 139 (83.23%) | 0.020 |
| Intermediate (10–20%) | 17 (11.97%) | 16 (9.58%) | 0.033 |
| High (>20%) | 13 (9.15%) | 12 (7.18%) | 0.035 |

*P value <0.05 was considered statistically significant

Tabelul XI - Comparații ale profilului lipidic între pacienții cu psoriazis și martori (valorile sunt exprimate ca medie±SD)

| Parameters | Psoriasis | | | Controls n=167 | P value |
|---------------------------|--------------|-----------------------------|----------------|-------------------|---------|
| | Mild n=32 | Moderate to severe n=110 | Total n=142 | | |
| Triglycerides (mg/dl) | 111.78±39.87 | 169.72±56.47 | 163.21±56.72 | 109.47±45.29 | <0.001 |
| Total cholesterol (mg/dl) | 217.87±38.2 | 224.69±79.87 | 223.42±142.72 | 204.3±82.51 | <0.01 |
| LDL-Cholesterol (mg/dl) | 104.13±28.92 | 119.85±34.52 | 118.62±36.79 | 104.26±31.86 | <0.05 |
| HDL-Cholesterol (mg/dl) | 49.8±7.18 | 44.12±9.16 | 44.63±11.39 | 52.46±8.65 | <0.01 |

*P value <0.05 was considered statistically significant

Valorile medii ale trigliceridelor, colesterolului total, LDL-C și HDL-C la pacienții cu psoriazis ușor, moderat până la sever și grupul martor sunt prezentate în tabelul XI. Nivelurile plasmatice ale

trigliceridelor la pacienții cu psoriazis au fost semnificativ crescute în comparație cu cele ale controlului ($163,21 \pm 56,72$ și, respectiv, $109,47 \pm 45,29$ mg/dl) ($p < 0,001$). Nivelurile serice ale colesterolului total au fost semnificativ mai ridicate în grupul cu psoriazis ($223,42 \pm 142,72$ mg/dl) în comparație cu martorii ($204,3 \pm 82,51$ mg/dl) ($p < 0,01$). Nivelurile medii ale LDL-Colesterolului în lotul de studiu au fost $118,62 \pm 36,79$ mg/dl și respectiv $104,26 \pm 31,86$ mg/dl la martori, diferența fiind semnificativă statistic ($p < 0,05$). Nivelurile medii ale HDL-Colesterolului în rândul pacienților cu psoriazis au fost mai scăzute în comparație cu cele ale grupului de control ($44,63 \pm 11,39$ mg/dl la pacienții cu psoriazis și respectiv $52,46 \pm 8,65$ mg/dl la control) ($p < 0,01$).

FRS la 10 ani a fost semnificativ mai mare la pacienții cu psoriazis decât la martori ($8,36 \pm 5,75$ vs. $6,61 \pm 4,13$; $p < 0,001$) (tabelul X). FRS a fost mai mare la bărbați (figura 2) și la pacienții cu vârsta peste 50 de ani (figura 3). În funcție de severitatea psoriazisului, FRS crește semnificativ de la psoriazis ușor la moderat până la sever ($6,82 \pm 4,48$ la $8,8 \pm 6,71$; $p = 0,003$). Nu a existat nicio corelație între durata psoriazisului și scorul de risc cardiovascular (OR 1,02, IC 95%: 0,005-0,34; $p = 0,617$).

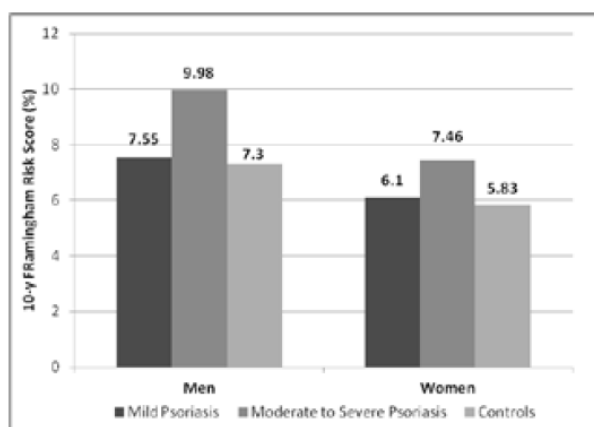


Figura 2. Scorul de risc Framingham la 10 ani în funcție de severitatea psoriazisului și sex

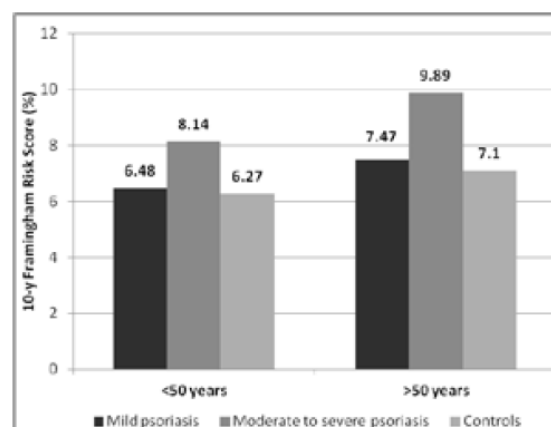


Figura 3. Scorul de risc Framingham la 10 ani în funcție de severitatea psoriazisului și de vârstă

Din cauza vârstei tinere a subiecților de studiu, majoritatea subiecților au avut un risc cardiovascular scăzut ($78,87\%$ și $83,23\%$ pentru grupul cu psoriazis și, respectiv martor; $p < 0,001$). Cu toate acestea, o proporție mai mare de pacienți cu psoriazis în comparație cu martorii s-au aflat în nivelurile de risc cardiovascular intermediar și ridicat ($11,97\%$ și $9,15\%$ pentru grupul cu psoriazis, $9,58\%$ și $7,18\%$ pentru pacienții martor, $p < 0,001$) (tabelul X).

Discuții

Un număr tot mai mare de studii epidemiologice continuă să demonstreze că bolile cardiovasculare și factorii lor de risc asociați sunt mai frecvenți la pacienții cu psoriazis decât în populația generală (Mallbris & Akre, et al., 2004; [Shaharyar, et al., 2014](#); Lakshmi, et al., 2014; Irimie, et al., 2015). Asocierea dintre psoriazis și comorbiditățile cardiometabolice poate apărea dintr-o predispoziție genetică, dar poate fi și consecința unor stiluri de viață specifice, inclusiv fumatul, consumul de alcool și obiceiurile sedentare (Gisoni, et al., 2009). Mecanismele biologice implicate în bolile cardiovasculare la pacienții cu psoriazis sunt încă necunoscute, dar acțiunea lor pare să fie multifactorială (Dommasch, et al., 2013). Progresele recente în înțelegerea imunopatogenezei și geneticii psoriazisului au schimbat accentul de la o boală unică de organ limitată la structurile pielii, la o afecțiune inflamatorie sistemică (Reich, 2012; Grozdev, et al., 2014). Inflamația sistemică s-a dovedit, de asemenea, ca un factor de risc cardiovascular independent (Calamita, et al., 2013). Inflamația sistemică și hipercoagulabilitatea predispun la aterotromboză și par a fi caracteristici importante ale SM (Pirro, et al., 2014). Un mecanism ipotetic care leagă psoriazisul, SM și bolile cardiovasculare invocă inflamația cronică Th 1 și Th 17 (Balta, et al., 2014). Citokinele proinflamatorii, cum ar fi TNF- α , interleukina-1 și interleukina-6 par să joace un rol central (Buerger, et al., 2012). TNF- α induce stresul oxidativ, care exacerbează procesele patologice care conduc la LDL-C oxidat și dislipidemie, intoleranță la glucoză, rezistență la insulină, HTA, disfuncție endotelială și aterogeneză (Alpsoy, et al., 2014). În prezent, nivelul crescut al homocisteinei este, de asemenea, considerat un factor de risc independent pentru bolile cardiovasculare, bolile cerebrovasculare și bolile vasculare periferice (Irimie & Vârciu, et al., 2018). În timp ce pacienții cu psoriazis par să aibă niveluri mai mari de homocisteină, hiperhomocisteinemia poate fi considerată un alt aspect care contribuie la creșterea riscului de boli cardiovasculare (McDonald, et al., 2012).

Factorii ce țin de stilul de viață precum fumatul, consumul de alcool, stilul de viață sedentar și terapia sistemică pentru psoriazis pot influența factorii de risc cardiovascular și pot avea un impact negativ direct asupra acestor factori de risc (Naldi, et al., 2005). Pacienții cu psoriazis au o calitate a vieții scăzută și o rată crescută de depresie, așa că tind să fumeze și să bea mai mult decât populația generală și să mănânce excesiv, ceea ce duce la obezitate (Irimie, et al., 2015).

Dislipidemia este unul dintre factorii de risc tradiționali majori pentru bolile cardiovasculare. Anomaliile profilului lipidic observate la pacienții cu psoriazis, pe lângă promovarea aterosclerozei în paralel, ar putea conduce și menține reacția inflamatorie la nivelul pielii (Dsouza, et al., 2013). Este încă controversat dacă modificările profilului lipidic sunt evenimente primare sau secundare psoriazisului sau poate datorită medicamentelor, cum ar fi retinoizii, ciclosporina și metotrexatul (Hugh, et al., 2014), în timp ce alte medicamente utilizate în psoriazis precum inhibitorii TNF s-au dovedit a reduce risc de boli cardiovasculare prin reducerea inflamației (Famenini, et al., 2014). Astfel, în studiul nostru am evaluat profilul lipidic ca predictor al bolilor cardiovasculare la pacienții cu psoriazis (fără tratament) și am constatat anomalii lipidice mai prevalente la pacienții cu psoriazis comparativ cu grupul de control. În general, diferite studii au raportat nivelurile serice de colesterolului total, HDL-C, LDL-C ale pacienților cu psoriazis ca niveluri ridicate, scăzute sau normale (Mallbris & Akre, et al., 2004), astfel că aceste anomalii ale profilului lipidic ar putea fi determinate genetic mai degrabă decât dobândite (Mallbris & Granath, et al., 2006). Cu toate acestea, factorii dietetici și socioeconomiici pot explica, de asemenea, frecvența lor ridicată.

Prevalența SM în populația generală este estimată între 15% și 24% (Hu, et al., 2004). Pacienții cu psoriazis au o prevalență crescută a SM care variază între 14% și 40%, în unele studii fiind aproape dublă față de cea a populației de control (Armstrong, et al., 2013). Studiul nostru a relevat o prevalență globală de 13,4% a SM la pacienții cu psoriazis, prevalență care a fost corelată cu severitatea psoriazisului. Psoriazisul este o boală multigenică și predispoziția la SM în psoriazis poate avea o componentă genetică (Li & Begovich, 2009). Mai multe studii genetice au arătat o asociere semnificativă între psoriazis și gena CDKAL1 implicată și în DZ (Wolf, et al., 2008).

Azfar și colab. (Azfar, et al., 2015) au găsit psoriazisul ca factor de risc independent pentru DZ de tip 2, riscul fiind cel mai mare la pacienții cu boală severă. Apariția DZ la pacientul cu psoriazis depinde de durata psoriazisului și de severitatea inflamației sistemice (Neimann, et al., 2006). Supraproducția de citokine Th 1 în psoriazis pare să crească rezistența la insulină (Ni, et al., 2014). Un alt factor care poate interfera cu dezvoltarea DZ în psoriazis este utilizarea corticosteroizilor topici pe perioade lungi (Irimie, et al., 2015).

S-a observat o asociere semnificativă între obezitate și psoriazis. Comparativ cu populația de control, pacienții cu psoriazis din studiul nostru au avut o prevalență semnificativ mai mare a obezității. Relația dintre psoriazis și obezitate este considerată a fi bidirecțională, psoriazisul crescând riscul de obezitate și obezitatea predispunând pacienții la psoriazis (Carrascosa, et al., 2014).

S-a descoperit că psoriazisul este un independent asociat cu HTA (Ni, et al., 2014). Mecanismele de relație dintre psoriazis și HTA nu sunt clar stabilite. Activitate crescută a reninei plasmatică, activitate crescută a enzimei de conversie a angiotensinei și endotelina-1 crescută la pacienții cu psoriazis ar putea contribui la un control slab al tensiunii arteriale (Ena, et al., 1985).

Evenimentele cardiovasculare apar mai frecvent la pacienții cu psoriazis cu psoriazis sever și boala de lungă durată (Uyanik, et al., 2002). Având în vedere importanța asocierii evenimentelor cardiovasculare cu severitatea psoriazisului, evaluăm factorii de risc cardiovascular în psoriazisul ușor și moderat până la sever. În lotul cu psoriazis ușor parametrii evaluați au avut valori medii apropiate de cele ale grupului de control, iar apoi în cadrul psoriazisului moderat până la sever frecvența factorilor de risc cardiovascular a crescut în comparație cu grupul de control. FRS este un instrument validat pentru a prezice riscul absolut de evenimente cardiovasculare la 10 ani la adulți prin stratificarea pacienților în 3 categorii de risc: scăzut (<10% risc), intermediar (10% până la 20%) și ridicat (>20%). În studiul nostru am descoperit că FRS este semnificativ mai mare la pacienții cu psoriazis cronic în plăci decât la martorii cu aceeași vârstă și sex. Riscul a fost mai mare la pacienții cu vârstă peste 50 de ani, la bărbați comparativ cu femeii și la pacienții cu psoriazis moderat până la sever. Armstrong și colab. (Armstrong, et al., 2013) a constatat că psoriazisul ușor este asociat cu un risc semnificativ crescut de infarct miocardic (RR 1,29; 95% CI: 1,02-1,63) și accident vascular cerebral (RR 1,12; 95% CI: 1,08-1,16), iar psoriazisul sever a fost asociat cu o risc crescut semnificativ de infarct miocardic (RR 1,70; 95% CI: 1,32-2,18), accident vascular cerebral (RR 1,56; 95% CI: 1,32-1,84) și mortalitate cardiovasculară (RR 1,39; 95% CI: 1,11-1,74). Mehta și colab. (Mehta, et al., 2011) consideră că psoriazisul sever conferă un risc suplimentar atribuibil de 6,2% pentru o incidență de 10 ani a evenimentelor cardiace adverse majore. De asemenea, s-a constatat că psoriazisul este un factor de risc independent pentru mortalitate (OR 1,86; IC 95%: 1,56-2,21) (Prodanovich, et al., 2009).

Rezultatele cercetării noastre au fost limitate de faptul că a fost un studiu descriptiv în care boala și expunerea au fost măsurate simultan în populația studiată, iar grupul de pacienți cu psoriazis a reprezentat, într-o proporție ridicată, pacienți cu boală moderată până la severă care frecventează clinica din Brașov (Romania).

Concluzii

Psoriazisul, în special psoriazisul moderat până la sever, pare să reprezinte un factor de risc pentru bolile cardiovasculare. Acest lucru s-ar putea datora unei prevalențe crescute a factorilor tradiționali de risc cardiovascular la persoanele cu psoriazis, efectului inflamației cronice la pacienții cu psoriazis sau unei combinații a ambilor factori. Pacienții cu psoriazis trebuie evaluați proactiv pentru riscul de boli cardiovasculare, iar comorbiditățile trebuie gestionate activ.

1.2.2. Factorii de risc cardiovasculari la pacienții cu rozacee

ORIGINAL PAPERS

ROSACEA AND CARDIOVASCULAR RISK FACTORS

MARIUS IRIMIE

Irimie M. Rosacea and Cardiovascular Risk Factors. *Dermato-Venerologia (Buc.)*. 2019;64(2):7-14. București, România, ISSN 1220/3734.

Clasic, rozaceea este considerată o afecțiune strict cutanată, dar o serie de studii au remarcat o asociere frecventă la pacienții cu rozacee a unor simptome specifice sau afecțiuni gastro-intestinale (Kendall, 2004; Romiti, et al., 2000; Gravina, et al., 2015), boli cardiovasculare (BCV), depresie (Spondlin & Bichsel, et al., 2014) sau migrenă (Gravina, et al., 2015). Deși legătura rozaceei cu sistemul cardiovascular este bine cunoscută – flushing-urile faciale și dezvoltarea telangiectaziilor fiind două dintre simptomele primare cutanate ale rozaceei – studii recente indică o potențială conexiune între rozacee și BCV.

În acest studiu ne-am propus să evaluăm riscul de BCV prin identificarea factorilor de risc cardiovascular la pacienții cu rozacee.

Material și metodă

Am realizat un studiu caz-control în care au fost incluși 46 de pacienți cu rozacee și 39 subiecți martor fără rozacee cu caracteristici asemănătoare de vârstă și sex cu cei din lotul de studiu. Subiecții celor două grupuri au fost recrutați din rândul pacienților consultați în ambulatoriul de Dermatologie al Spitalului Clinic Județean de Urgență din Brașov în perioada ianuarie 2018-noiembrie 2018, bărbați și femei cu vârsta peste 18 ani care au îndeplinit criteriile de includere/excludere. Protocolul studiului a fost aprobat de comisia de etică a spitalului. Înrolarea în studiu s-a efectuat cu acordul scris al subiecților. Diagnosticul de rozacee s-a bazat pe aspectele clinice conform criteriilor National Rosacea Society (Crawford, 2004), pentru diagnosticul de rozacee fiind necesar cel puțin unul dintre criteriile

primare cu localizare centropacială: istoric de flushing-uri frecvente, eritem permanent, papule și pustule, telangiectazii. Criteriile secundare includ senzația de arsură sau de înțepătură, edemul, plăcile, aspectul uscat al tegumentului, manifestările oculare și modificările hipertrofice.

Criterii de excludere

- Subiectul nu și-a dat acordul scris pentru participarea în studiu;
- Vârsta sub 18 ani;
- Femeie însărcinată sau care alăptează;
- Utilizarea de terapii hipolipemiante, antiinflamatorii non-steroidiene, corticoterapie sistemică în ultima lună;
- Terapie curentă cu contraceptive orale;
- Anomalii severe ale funcției renale;
- Afecțiuni hepatice acute sau cronice severe;
- Disfuncții tiroidiene manifeste clinic sau subclinice;
- Alte boli inflamatorii cronice cutanate sau sistemice, boli autoimune sau infecție activă în momentul înrolării;
- Istoric de sindroame de imunodeficiență severă.

Într-o primă etapă au fost înregistrate: datele demografice, istoricul medical personal, fumatul de țigarete, consumul de alcool, antecedentele heredocolaterale, medicație concomitentă și recentă, date despre examenul fizic și datele antropometrice (înălțime, greutate, circumferința abdominală, IMC). La pacienții cu rozacee au fost colectate în plus date privind vechimea bolii și subtipul clinic de rozacee.

Subiecții eligibili în prima etapă au continuat cu următoarele proceduri. Femeilor cu potențial de procreare li s-a efectuat un test de sarcină urinar. Pentru diagnosticul comorbidităților și identificarea factorilor de risc cardiovasculari, pe lângă istoricul medical și examenul fizic general, au fost efectuate investigații de laborator de screening în ambele grupuri. Au fost prelevate probe de sânge a jeun prin puncție venoasă (7-10 ml) pentru efectuarea: hemoleucogramei, glicemiei, colesterolului total, LDL-colesterolului, HDL-colesterolului, trigliceridelor, ureei, creatininei, TGO, TGP, acidului uric, insulinei, și proteinei C reactive înalt senzitive (hs-CRP). Au fost considerați ca factori de risc pentru bolile cardiovasculare: vârsta >45 de ani la bărbați și >55 ani la femei, istoricul familial de BCV timpurie, circumferința abdominală >94 cm la bărbați și >80 cm la femei, IMC >25 kg/m², prediabetul (definit ca valori ale glucozei serice a jeun între 100-125 mg/dl), diabetul zaharat, hipertensiunea arterială,

fumatul, consumul de alcool, valori ale colesterolului total >200 mg/dl, valori ale LDL-colesterolului >130 mg/dl, valori ale HDL-colesterolului <40 mg/dl la bărbați și <50 mg/dl la femei, valori ale trigliceride >150 mg/dl, valori ale hsCRP \geq 1 mg/l. Sindromul metabolic (SM) a fost definit prin prezența a mai mult de trei dintre criteriile stabilite de Federația Internațională de Diabet (2005). Pentru a cuantifica rezistența la insulină a fost utilizată evaluarea modelului homeostatic (HOMA-IR) (HOMeostasis Model Assessment of Insulin-Resistance) ($HOMA-IR = [glucozei (mg/dl) \times insulină (mg/dL)]/405$). Am considerat o valoare >2 a indicelui HOMA ca reprezentând insulinorezistența. Subiecților din ambele grupuri cu vârsta cuprinsă între 30 și 79 ani li s-a calculat Scorul de Risc Framingham la 10 ani (FRS) pentru infarct miocardic și deces incluzând vârsta, sexul, colesterolul total, HDL-colesterol, tensiunea arterială sistolică, și fumatul. FRS calculat individual a fost considerat cu risc scăzut (risc <10%), risc intermediar (risc 10-20%) și risc ridicat (>20%).

Analiza statistică

Datele au fost înregistrate într-o bază de date Microsoft Excel și ulterior supuse unei analize statistice utilizând SPSS 20.0 pentru Windows. Datele continue, normal distribuite, au fost prezentate ca valori medii \pm deviația standard. Testul ANOVA a fost folosit pentru comparații între grupurile de variabile continue. Testul chi-pătrat a fost utilizat pentru a compara variabilele prezentate în cifre și procente. Variabilele continue au fost dihotomizate în funcție de valorile *cut off* definite anterior și a fost aplicat t independent test. Riscul relativ estimat a fost calculat prin odds ratio utilizând regresia logistică bivariată. Corelațiile dintre parametrii clinici și cei paraclinici au fost calculate folosind analiza de corelație Spearman. Pragul de semnificație statistică acceptat a fost $p < 0,05$.

Rezultate

Au fost incluși în studiu 46 de subiecți cu rozacee (37 femei și 9 bărbați, sex ratio F/M 4,11/1, vârsta medie $49,8 \pm 15,18$ ani) și 39 subiecți martor (31 femei și 8 bărbați, sex ratio F/M 3,88/1, vârsta medie $47,87 \pm 15,11$ ani). Caracteristicile de vârstă și sex ale pacienților cele două grupuri au fost similare ($p=0,949/0,541$). 23 (50%) dintre pacienții cu rozaceea aveau fototip 2 și 23 (50%) fototip 3, iar în lotul martor 12 (30,77%) subiecți aveau fototip 2, 25 (64,1%) fototip 3 și 2 (5,13%) fototip 4. Dintre cei 46 pacienți cu rozacee 27 (58,69%) prezentau forma clinică de rozacee eritemato-telangiectazică iar 19

(41,31%) aveau rozacee papulo-pustuloasă. Durata de evoluție a rozaceei a variat de la 1 la 40 de ani cu o medie de $10,85 \pm 9,08$ ani (tabelul XII).

Tabelul XII - Caracteristici demografice și clinice ale loturilor de studiu

| | Rozacea | | Controls | | P |
|------------------------------------|-------------|--------|-------------|--------|------|
| | n | % | n | % | |
| Women | 37 | 80.43% | 31 | 79.49% | .541 |
| Men | 9 | 19.57% | 8 | 20.51% | |
| Age (mean±SD) | 49.8±15.18 | | 47.87±15.11 | | .949 |
| Phototype 2 | 23 | 50% | 12 | 30.77% | .453 |
| 3 | 23 | 50% | 25 | 64.1% | |
| 4 | 0 | 0% | 2 | 5.13% | |
| BMI (mean±SD) (kg/m ²) | 26.79±3.29 | | 25.75±5.04 | | .374 |
| Waist circumference (mean±SD) (cm) | 85.87±15.25 | | 83.62±16.99 | | .098 |

BMI – body mass index

Factori de risc cardiovascular

O vârstă >45 de ani la bărbați și >55 ani la femei au avut 39,13% dintre pacienții cu rozacee și 30,77% dintre subiecții martor ($p=0.671$). Circumferința abdominală medie a fost de $85,87 \pm 15,25$ cm în grupul cu rozacee și de $83,62 \pm 16,99$ cm în grupul de control ($p=0.098$). O circumferință abdominală >94 cm la bărbați și >80 cm la femei a fost observată la 58,70% dintre pacienții cu rozacee și la 46,15% dintre subiecții martor (OR 1,185; 90%CI: 0,765-4,307; $p=0.490$). IMC mediu a fost similar în cele două grupuri ($26,79 \pm 3,29$ kg/m² și respectiv $25,75 \pm 5,04$ kg/m², $p=0.374$). Un IMC >25 kg/m² a fost calculat la 69,56% dintre pacienții cu rozacee și la 48,72% dintre martori (OR 2,175; 90%CI: 0,902-5,244; $p=0,595$). Frecvența fumatului (10,87% vs. 25,64%; $p=0.765$) și consumului de alcool (10,87% vs. 5,13%; $p=0.589$) în cele două grupuri nu a avut diferențe semnificative statistic.

În grupul cu rozacee nivelul seric mediu al colesterolului total a fost de $213,65 \pm 52,47$ mg/dL (50% dintre ei având valori >200 mg/dL), pe când în lotul martor nivelul mediu al colesterolului total a fost de $198,63 \pm 38,59$ mg/dL (43,59% cu valori >200 mg/dL) (OR 1,294; 90%CI: 0,549-3,049; $p=0.313$). Nivelul seric mediu al LDL a fost de $126,95 \pm 45,94$ mg/dL la pacienții cu rozacee (36,96% cu valori >130 mg/dL) și de $117,05 \pm 29,23$ mg/dL (43,59% având valori >130 mg/dL) (OR 0,759; 90%CI: 0,317-1,813; $p=0.987$). La pacienții cu rozacee valoarea medie a HDL a fost de $53,48 \pm 17,48$ mg/dL (39,13% cu valorile sub limita normală), comparativ cu $57,40 \pm 16,71$ mg/dL în lotul de control (33,33% cu valorile sub limita normală) (OR 1,286; 90%CI: 0,527-3,134; $p=0.037$). Nivelul seric mediu al trigliceridelor a fost de

136,51±70,85 mg/dL la pacienții cu rozacee (28,26% cu valori >150 mg/dL) și de 128,55±56,63 mg/dL la subiecții martor (30,77% cu valori >150 mg/dL) (OR 0,886; 90%CI: 0,348-2,258; p=0.298). Valoarea medie a glicemiei a fost de 98,16±25,38 mg/dL în lotul cu rozacee (valori >100 mg/dL la 36,96%) și respectiv de 98,92±17,32 mg/dL la martori (valori >100 mg/dL la 30,77%) (OR 1,446; 90%CI: 0,587-3,567; p=0.671). Nivelul mediu al insulinei în grupul cu rozacee și în cel de control a fost de 9,062±6,06 μUI/mL și respectiv 14,9±21,47 μUI/mL, iar al indicelui HOMA-IR de 2,21±1,59 și respectiv 4,25±7,92. Valoarea medie a CRP a fost mai mare în lotul cu rozacee decât în grupul de control (2,37±4,93 mg/L vs. 1,02±1,3 mg/L, p=0.603), valori ≥1 mg/L având 34,78% dintre pacienții cu rozacee și 23,07% dintre martori (OR 1,778; 90%CI: 0,680-4,646; p=0.028) (tabelele XIII și XIV).

FRS mediu în grupul cu rozacee a fost de 3,307±4,394 iar în grupul martor 3,039±3,557 (p=0.001). O corelație semnificativă statistic între forma clinică a rozaceei și factorii de risc cardiovascular s-a observat doar pentru indicele HOMA ($r=-0.364$, $p=0.017$) (tabelul XV).

Tabelul XIII – Comparația datelor de laborator între grupurile de studiu

| Laboratory variable | Mean value ± SD | | p* |
|-------------------------------|-----------------|--------------|------|
| Fasting blood glucose (mg/dL) | 98.16±25.38 | 98.92±17.32 | .531 |
| Insulin (μUI/mL) | 9.062±6.06 | 14.9±21.47 | .328 |
| HOMA-IR index | 2.21±1.59 | 4.25±7.92 | .297 |
| Total cholesterol (mg/dL) | 213.65±52.47 | 198.63±38.59 | .328 |
| LDL (mg/dL) | 126.95±45.94 | 117.05±29.23 | .486 |
| HDL (mg/dL) | 53.48±17.48 | 57.40±16.71 | .229 |
| Triglycerides (mg/dL) | 136.51±70.85 | 128.55±56.63 | .148 |
| CRP (mg/L) | 2.37±4.93 | 1.02±1.3 | .603 |

* ANOVA test using continuous values of variables; LDL = low-density lipoprotein; HDL = high-density lipoprotein; CRP = C-reactive protein.

Tabelul XIV – Compararea factorilor de risc cardiovascular în cele două grupuri

| | Rozacea (n=46)% | Controls (n=39)% | OR* | 95%CI | p** |
|--|--------------------|---------------------|--------------|--------------|-------------|
| Age (>45 years in men, > 55 years in women) | 18 (39.13%) | 12 (30.77%) | 1.446 | 0.587-3.567 | .671 |
| Waist circumference (>80 cm in women, >94 cm in men) | 27 (58.70%) | 18 (46.15%) | 1.185 | 0.765-4.307 | .490 |
| BMI (>25 kg/m ²) | 32 (69.56%) | 19 (48.72%) | 2.175 | 0.902-5.244 | .595 |
| Smoking | 5 (10.87%) | 10 (25.64%) | 0.354 | 0.109-1.144 | .765 |
| Alcohol consumption | 5 (10.87%) | 2 (5.13%) | 2.256 | 0.413-12.337 | .589 |
| Hypertension | 21 (45.65%) | 8 (20.51%) | 3.255 | 1.234-8.586 | .004 |
| Fasting blood glucose (>100 mg/dL) | 17 (36.96%) | 12 (30.77%) | 1.319 | 0.533-3.264 | .461 |
| HOMA index (>2) | 21 (45.65%) | 26 (66.67%) | 0.420 | 0.174-1.016 | .658 |
| Total cholesterol (>200 mg/dL) | 23 (50%) | 17 (43.59%) | 1.294 | 0.549-3.049 | .313 |
| LDL (>130 mg/dL) | 17 (36.96%) | 17 (43.59%) | 0.759 | 0.317-1.813 | .987 |
| HDL (<40 mg/dL in men and <50 mg/dL in women) | 18 (39.13%) | 13 (33.33%) | 1.286 | 0.527-3.134 | .037 |
| Triglycerides (>150 mg/dL) | 13 (28.26%) | 12 (30.77%) | 0.886 | 0.348-2.258 | .298 |
| Metabolic syndrome | 14 (30.43%) | 10 (25.64%) | 1.269 | 0.488-3.295 | .047 |
| CRP (\geq 1 mg/L) | 16 (34.78%) | 9 (23.07%) | 1.778 | 0.680-4.646 | .028 |

Bold denotes significant difference ($p < 0.05$); * Bivariate logistic regression; ** t-independent test; BMI = body mass index; LDL = low-density lipoprotein; HDL = high-density lipoprotein; CRP = C-reactive protein.

Tabelul XV – Compararea factorilor de risc cardiovascular între formele clinice de rozacee

| | Erythematotelangiectatic (n=26)% | Papulopustular (n=20)% | OR* | 95%CI | p** |
|--|-------------------------------------|---------------------------|-------|-------------|-------------|
| Age (>45 years in men, > 55 years in women) | 12 (46.15%) | 7 (35%) | 0.628 | 0.189-2.085 | .447 |
| Waist circumference (>80 cm in women, >94 cm in men) | 18 (69.23%) | 10 (50%) | 0.444 | 0.133-1.489 | .189 |
| BMI (>25 kg/m ²) | 18 (69.23%) | 13 (65%) | 0.825 | 0.239-2.853 | .762 |
| Smoking | 3 (11.53%) | 2 (10%) | 0.852 | 0.128-5.653 | .868 |
| Alcohol consumption | 2 (7.69%) | 3 (15%) | 2.118 | 0.319-14.07 | .437 |
| Hypertension | 12 (46.15%) | 9 (45%) | 0.955 | 0.296-3.078 | .939 |
| Fasting blood glucose (>100 mg/dL) | 11 (42.31%) | 6 (30%) | 0.584 | 0.170-2.005 | .398 |
| HOMA index (>2) | 16 (61.54%) | 5 (25%) | 0.208 | 0.058-0.752 | .017 |
| Total cholesterol (>200 mg/dL) | 13 (50%) | 10 (50%) | 1.000 | 0.312-3.209 | .999 |
| LDL (>130 mg/dL) | 12 (46.15%) | 5 (25%) | 0.398 | 0.109-1.388 | .146 |
| HDL (<40 mg/dL in men and <50 mg/dL in women) | 7 (26.92%) | 11 (55%) | 3.317 | 0.964-11.41 | .057 |
| Triglycerides (>150 mg/dL) | 9 (34.62%) | 4 (20%) | 0.472 | 0.121-1.842 | .280 |
| Metabolic syndrome | 10 (38.46%) | 4 (20%) | 0.400 | 0.104-1.544 | .184 |
| CRP (\geq 1 mg/L) | 10 (38.46%) | 6 (30%) | 0.686 | 0.198-2.371 | .551 |

Bold denotes significant difference ($p < 0.05$); * Bivariate logistic regression; ** t-independent test; BMI = body mass index; LDL = low-density lipoprotein; HDL = high-density lipoprotein; CRP = C-reactive protein.

Discuții

În ultimii ani mai multe afecțiuni inflamatorii cutanate, cel mai studiat fiind psoriazisul, nu mai sunt privite doar ca o simplă afecțiune cutanată ci mai degrabă ca afecțiuni inflamatorii sistemice care asociază un exces de disfuncții metabolice și factori de risc cardiovasculari. Se pare că de cele mai multe ori inflamația sistemică este cea care stă la baza relației dintre bolile inflamatorii cutanate și bolile interne.

Rozaceea este o afecțiune inflamatorie cutanată cronică progresivă care afectează 5-15% din populația generală, în special indivizii cu fototipuri clare (Irimie, 2019). Manifestările clinice ale rozaceei variază ca intensitate și aspect (eritem, telangiectazii, papule și pustule), având localizare centrofacială (obraji, bărbie, nas, frunte) și evoluție cu perioade de exacerbare și perioade de remisiune. Fiziopatologia rozaceei rămâne neclară. Au fost identificați mai mulți factori implicați în patogeneza ei, unii pe baza unor dovezi științifice, alții doar prin observații clinice: predispoziția genetică, reactivitate vasculară anormală, infecția cu *Helicobacter pylori*, infecția cu *Demodex folliculorum*, seboreea, expunerea la radiațiile ultraviolete, hipertensiunea arterială, factori psihologici, dar în prezent este acceptat faptul că rozaceea este mai degrabă o afecțiune inflamatorie decât un proces infecțios (Del Rosso, et al., 2012).

Mecanismele patogenice ale rozaceei sunt legate de anomalii ale imunității înnăscute, modificărilor vasculare, eliberării de specii reactive de oxigen de către neutrofile, de mediatori inflamatori, radiații ultraviolete și microorganisme. Reactivitatea vasculară anormală pare a fi fenomenul principal în patogeneza rozaceei iar vasodilatația este asociată cu niveluri crescute de mediatori inflamatorii, incluzând histamina, prostaglandinele și speciile reactive de oxigen (Elewski, et al., 2011). Degenerarea matricei dermale extracelulare cauzată de proteazele degradative eliberate de neutrofile poate deteriora în plus țesutului conjunctiv din jurul vaselor din piele. Date recente indică faptul că disfuncția sistemului imunitar înnăscut poate juca un rol central în dezvoltarea anomaliilor vasculare și a inflamației pielii la pacienții cu rozacee (Duman, et al., 2014). S-a constatat că rozaceea este asociată cu un răspuns exacerbant al sistemului imunitar înnăscut la stimuli de mediu prin eliberarea de niveluri anormale de defensine, o categorie de peptide antimicrobiene (AMPs), precum cathelicidina (Coda, et al., 2013). Au fost evidențiate în pielea feței pacienților cu rozacee niveluri de 10 ori mai mari ale cathelicidinei și aproape de 1000 de ori mai mari ale serin-proteazei (kalikreina-5), o protează care

activează cathelicidina epidermică în forma sa proinflamatorie (Schauber, et al., 2009). Cathelicidina are rol de semnalare moleculară fiind implicată în angiogeneză, în migrarea leucocitară și în procesul de cicatrizare. Cathelicidina induce eliberarea de IL-8 care recrutează și activează leucocitele polimorfonucleare, celulele predominante în pustulele din rozaceea papulo-pustuloasă (Spendlin & Bichsel, et al., 2014). Prin proprietățile sale proinflamatorii și angiogenice, disfuncția cathelicidinei LL-37 poate fi considerată ca fiind factorul esențial în patogeneza rozaceei (Crawford, et al., 2004).

Un alt factor care pare a interveni în patogeneza rozaceei este hiperexpresia receptorilor Toll-like-2 (TLR-2), activarea acestora inducând producerea de cathelicidină în keratinocite. Un posibil ligand pentru TLR-2 în pielea cu rozacee este chitina acarienilor *Demodex* (Reinholz, et al., 2013).

Reacția inflamatorie neurogenă este de asemenea discutată în patogeneza rozaceei. Pacienții cu rozacee sunt hipersensibili la stimuli fiziologici care provoacă flushinguri recurente ale feței. În dermul normal vasele de sânge, mastocitele și nervii senzitivi interacționează strâns, dar în pielea pacienților cu rozacee a fost raportat un număr semnificativ mai mare de mastocite, de aici, posibilitatea ca mastocitele să joace un rol în reglarea mecanismelor de comunicare neuroimunologică și neurovasculară în stadiile inițiale ale rozaceei (Spendlin & Voegel, et al., 2012).

Hua și colab. (Hua, et al., 2015) într-un studiu realizat în Taiwan pe 33.553 pacienți cu rozacee comparativ cu un lot martor de 67.106 indivizi fără rozacee cu aceleași caracteristici de vârstă și sex, au observat că pacienții cu rozacee au un risc cu 41% mai mare pentru dislipidemie, cu 35% mai mare pentru boală coronariană, și cu 17% mai mare pentru HTA decât pacienții fără rozacee. Riscul de BCV a fost mai mare la bărbații cu rozacee comparativ cu femeile, și de asemenea bărbații cu rozacee au prezentat un risc mai mare pentru DZ și stroke. Pacienții cu un istoric mai vechi de rozacee au un risc mai ridicat de BCV. Un alt studiu pe un număr mai mic de pacienți condus în Turcia a demonstrat de asemenea o frecvență mai ridicată a dislipidemiei și BCV la pacienții cu rozacee (Spendlin & Bichsel, et al., 2014).

Conexiunile fiziopatologice între rozacee și BCV sunt complexe și rămân neclare, implicând posibil mecanisme care stau la baza stării inflamatorii cronice, inclusiv citokine proinflamatorii, modificări metabolice, imunologice și endocrine. Studiile au evidențiat prezența cathelicidinei și în placa de aterom (Ciornei, et al., 2006) și chiar o asociere între expresia genei cathelicidinei umane și factorii

de risc BCV (Benachour, et al., 2009). Similar, serin-proteaza pare a avea un rol în procesul aterosclerotic, iar blocarea activității sale previne extensia plăcii aterosclerotice (Bot, et al., 2009).

În prezent se cunoaște că inflamația sistemică conduce la modificări structurale ale lipoproteinelor care transportă colesterolul afectând în mod negativ capacitatea lor de a elimina colesterolul din organism. Atunci când sunt eliberate în circulația sistemică celulele imune și citokinele alterează funcția celulelor endoteliale și hematopoietice ducând la creșterea riscului de rezistență la insulină și ateroscleroză. Există multe dovezi care indică faptul că inflamația, atât cea focală, cât și cea sistemică, joacă un rol cheie în destabilizarea și ruperea plăcilor aterosclerotice conducând la evenimente cardiovasculare acute (Madjid & Willerson, 2011). Având în vedere rolul important pe care îl joacă procesele inflamatorii în determinarea stabilității plăcii de aterom, cercetări recente s-au concentrat asupra determinării biomarkerilor inflamației (fibrinogenul, VSH, CRP, amiloidul seric A, IL-6, TNF α , complexul t-PA-PAI-1, E-selectina, P-selectina, etc) contribuind la îmbunătățirea stratificării riscurilor și identificarea grupurilor de pacienți care ar putea beneficia de strategii speciale de tratament. Dintre acești markeri, proteina C reactivă este considerată markerul prototip al procesului inflamator sistemic, fiind cea mai studiată atât ca factor cauzal, cât și în predicția bolii coronariene (Calabro, et al., 2012). Spre deosebire de alți markeri ai inflamației, nivelurile CRP sunt stabile pe perioade lungi, nu au variații diurne, și pot fi măsurate fără costuri ridicate cu teste de sensibilitate ridicată (Devaki, et al., 2011). În studiul nostru valoarea medie a CRP a fost mai mare în lotul cu rozacee comparativ cu lotul martor ($2,37 \pm 4,93$ vs. $1,02 \pm 1,3$ mg/L), 34,78% dintre pacienții cu rozacee având valori ale CRP ≥ 1 mg/L.

Cascada inflamatorie sistemică este considerată a favoriza și dezvoltarea sindromului metabolic (Boehncke, et al., 2011). SM reprezintă un grup de factori de risc cardiovasculari clasici incluzând obezitatea centrală, dislipidemia, intoleranța la glucoză și hipertensiunea arterială, și este identificat ca fiind un predictor puternic al BCV, stroke-ului și DZ de tip 2 (Calabro, et al., 2012). Conform celor mai recente dovezi științifice, țesutul adipos visceral nu servește numai pentru a stoca energie, dar este, de asemenea, un jucător important în sistemul imunitar și reprezintă un organ endocrin activ care produce la rândul său citokine proinflamatorii (Ronti, et al., 2006).

În studiul nostru s-a observat o frecvență mai ridicată a HTA, a valorilor scăzute ale HDL colesterolului, a CRP și a sindromului metabolic la pacienții cu rozacee comparativ cu lotul martor, rezultate care s-au asociat cu un risc mai ridicat de BCV și deces conform FRS ($p=0.001$).

Concluzie

Pacienții cu rozacee asociază mai frecvent factori de risc cardiovascular comparativ cu subiecții martor, impunând o evaluare sistematică a acestora datorită riscului crescut pentru bolile cardiovasculare și deces.

1.2.3. Proteina C-reactivă și T3: noi factori de prognostic în accidentul vascular cerebral ischemic acut

C-Reactive Protein and T3: New Prognostic Factors in Acute Ischemic Stroke

Claudia-Alexandrina Irimie, MD,* Mihai Vârciu, MD, PhD,*
Marius Irimie, MD, PhD,† Petru-Iulian Ifteni, MD, PhD,‡ and
Dan-Ioan Minea, MD, PhD§

Irimie CA, Vârciu M, Irimie M, Ifteni PI, Minea DI. C-reactive protein and T3: new prognostic factors in acute ischemic stroke. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2018 Oct;27(10):2731-2737. DOI: [10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.05.047](https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.05.047)

Un alte studiu de interdisciplinaritate privind implicarea inflamației sistemice și a stresului oxidativ este " C-reactive protein and T3: new prognostic factors in acute ischemic stroke". Accidentul vascular cerebral ischemic (AVCI) este printre principalele cauze de deces și rămâne o cauză importantă de handicap la nivel mondial. Conform datelor epidemiologice, impactul AVC asupra sănătății publice este în creștere constantă datorită îmbătrânirii populației, creșterii numărului de supraviețuitori după accident vascular cerebral și infarct miocardic (IM), astfel populația prezintă un risc major de a dezvolta noi evenimente vasculare. Rata anuală de mortalitate la 100.000 de persoane din cauza AVC în România a crescut cu 6,9% din 1990, cu o medie de 0,3% pe an (Global Health Data Exchange, 2017; NHS Choices, 2017).

Aprecierea precisă și precoce a evoluției bolii și a rezultatelor este decisivă pentru identificarea pacienților cu AVC care ar putea beneficia de terapii direcționate pentru a îmbunătăți recuperarea după accident vascular cerebral. În prezent, severitatea AVCI și predicția rezultatelor funcționale și cognitive sunt evaluate folosind scale de evaluare clinică standardizate, vârsta pacienților și gradul de afectare a creierului prin modalități imagistice. Valoarea prognostică a parametrilor clinici obișnuiți la pacienții cu AVC este destul de subiectivă și insuficientă, astfel încât identificarea de noi biomarkeri care ar putea îmbunătăți acuratețea diagnosticului scalelor actuale de prognostic a rezultatului (Bunevicius, et al., 2015).

AVCI este asociat cu răspunsul inflamator sistemic și cu concentrații serice crescute ale biomarkerilor inflamatori, cum ar fi proteinele de fază acută, citokinele și moleculele de adeziune celulară (Fassbender, et al., 1994). Proteina C reactivă (CRP) este un biomarker dovedit al prognosticului nefavorabil după AVC (Di Napoli, et al., 2005) și a fost asociată cu o stare cognitivă slabă la pacienții cu boli cardiovasculare (Gunstad, et al., 2006). Cercetări recente sugerează că concentrațiile serice ale hormonilor tiroidieni sunt modificate în faza acută a AVC [8, 9]. În plus, citokinele pro-inflamatorii sunt implicate în dezvoltarea sindromului de T3 scăzut prin inhibarea acțiunii centrale a axei hipotalamo-hipofizo-tiroidiene (HPT) și producerea periferică de T3 afectată (Bunevicius, et al., 2014). Puține rapoarte sugerează că sindromul de T3 scăzut poate fi un biomarker prognostic important al stării funcționale la pacienții cu AVC ischemic (Ambrosius, et al., 2011).

Scopul acestui studiu este de a evalua CRP și T3 ca predictorii independenți ai rezultatelor funcționale și cognitive slabe la externare la pacienții cu AVCI acut.

Subiecte și metode

În acest studiu au fost evaluați 321 de pacienți care au fost internați la Spitalul Clinic de Neurologie și Psihiatrie Brașov, în perioada iulie 2016 – ianuarie 2017. După aplicarea criteriilor de includere și excludere au fost incluși în studiu 120 de pacienți cu AVCI acut. Un consimțământ informat scris a fost obținut de la pacient sau de la rudele acestora la internare. Infarctul cerebral a fost definit ca un deficit neurologic focal cu debut brusc care a persistat peste 24 de ore, documentat prin tomografie computerizată (CT) indicând prezența infarctului și absența hemoragiei.

Criteriile de includere au fost vârsta pacientului ≥ 18 ani, AVCI confirmat prin tomografie. Criterii de excludere: AVC hemoragic, AVCI tranzitoriu, mai mult de 24 de ore de la apariția simptomelor la pacienții cu AVCI, boli tiroidiene cunoscute sau administrare de medicamente care ar putea interfera cu secreția tiroidiană (amiodaronă, litiu), insuficiență hepatică și renală, alte cauze asociate cu niveluri ridicate de CRP (infecție, sepsis).

Protocolul studiului și colectarea datelor

Fiecare pacient a fost supus unui istoric clinic detaliat și unui examen neurologic. Severitatea AVC la internare a fost evaluată utilizând Scala NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale), iar

distribuția scorurilor NIHSS a fost clasificată în trei categorii: ușoară pentru NIHSS < 8; moderat pentru NIHSS 8–14; și sever pentru NIHSS >14. Am împărțit pacienții în 3 grupuri în funcție de cele trei categorii de scor NIHSS. Clasificarea TOAST (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment) a fost utilizată pentru a evalua etiologia accidentului vascular cerebral: ateroscleroza arterei mari (LAA), cardioembolic (CE), ocluzia vaselor mici (lacunară) (LC), nedeterminată sau altă etiologie (UN). Am folosit clasificarea Oxford Community Stroke Project (OCSP, cunoscută și sub denumirea de clasificare Bamford sau Oxford) pe baza extinderii simptomelor ca: infarct de circulație anterioară totală (TACI), infarct de circulație anterioară parțială (PACI), infarct de circulație posterioară (POCI), și infarct lacunar (LACI). La externare am folosit Mini-Mental State Examination (MMSE) pentru a măsura afectarea cognitivă. Doi pacienți au fost excluși din cauza unor tulburări severe de comunicare. Am folosit un scor limită de 24, cu un rezultat cognitiv bun la un scor MMSE mai mare de 24 și un rezultat cognitiv slab MMSE scor egal sau mai mic de 24. Pentru măsurarea gradului de dizabilitate sau dependență am folosit Scala Rankin modificată (mRS). Am studiat relația dintre valorile CRP și T3 și rezultatul funcțional slab la externare definit ca scor mRS >3.

Au fost investigate caracteristicile inițiale, inclusiv date demografice, factori de risc ai AVC - hiperlipidemie, HTA, DZ, atacuri ischemice tranzitorii, boală coronariană, fibrilație atrială, fumat, consum de alcool. Au fost descriși factorii de risc cerebrali, cum ar fi fumatul curent sau anterior; abuz de alcool (100 g/zi); hipercolesterolemie (tratamentul hipercolesterolemiei și/sau al colesterolului total a jeun >200 mg/dL); hipertrigliceridemie (tratamentul hipertrigliceridemiei și/sau al trigliceridelor a jeun >150 mg/dL); HTA (antecedente de hipertensiune arterială și/sau tensiune arterială sistolică \geq 130 mm Hg și/sau presiune diastolică \geq 90 mm Hg, tratată sau nu); antecedente de DZ sau un nou diagnostic (două nivel de glucoză plasmatică a jeun \geq 126 mg/dl (7,0 mmol/l) sau glucoză plasmatică \geq 11,1 mmol/l (200 mg/dl) la două ore după o încărcare orală de glucoză de 75 g ca într-un test de toleranță la glucoză sau simptome de glicemie crescută și glucoză plasmatică ocazională \geq 11,1 mmol/L (200 mg/dL) sau hemoglobină glicozilată (HbA1C) \geq 6,5. Obezitatea a fost definită ca IMC \geq 30 kg/m² deoarece aritmiile au fost documentate prin ECG standard cu 12 derivații, iar cauzele selectate au fost diagnosticate prin ecocardiografie. Au fost măsurați glucoza plasmatică, profilul lipidic, acidul uric, calciul total și alți parametri de laborator. Probele de sânge pentru dozarea TSH, T3, CRP au fost prelevate la momentul

internării și apoi au fost centrifugate și serul a fost depozitat congelat la -40 C . Probele de sânge au fost analizate utilizând metoda imunoturbidimetrică pentru CRP și imunotestul cu microparticule chimioluminiscente (CMIA) pentru TSH și T3 (analizor de biochimie Abbott Architect ci8200). Valorile normale ale CRP variază între $0,5\text{-}5\text{ mg/dL}$. Intervalele normale pentru TSH au fost $0,35\text{-}4,94\text{ mUI/L}$ și pentru T3 total $0,89\text{-}2,44\text{ nmol/L}$. Pacienții care au avut niveluri scăzute de TSH cu sau fără niveluri ridicate de T3 au fost considerați ca model hipertiroidian, în timp ce pacienții care au avut TSH crescut cu sau fără T3 au fost considerați ca model hipotiroidian. Pacientul care avea niveluri scăzute de T3 și niveluri normale sau scăzute de TSH au fost considerați ca având sick euthyroid syndrome.

Analiza statistică

Analiza statistică a fost efectuată folosind SPSS 20.0 pentru Windows. Valorile pentru CRP, T3 și TSH au arătat un model distribuit nenormal conform testului Kolmogorov-Smirnov și au fost transformate log și prin urmare a fost aplicat în continuare testul Mann-Whitney. A fost efectuat t-test independent pe eșantioanele cu variabile cu distribuție normală. Datele categoricale au fost prezentate ca procente, iar datele continue ca medie \pm deviație standard (SD). Curbele caracteristicilor de operare a receptorului (ROC) au fost calculate pentru a defini cea mai bună valoare limită a CRP și T3 pentru a prezice rezultatele. Precizia testului a fost evaluată măsurând aria sub curba ROC (AUROC). Am investigat asocierile dintre severitatea AVC la admitere (scor NIHSS), rezultatul funcțional (mRS) și evaluarea cognitivă (MMSE) la externare cu nivelurile de CRP și T3 prin efectuarea corelației lui Spearman. Ulterior, prin efectuarea de analize de regresie liniară bivariată am evaluat asocierea severității AVC, mRS și MMSE cu concentrațiile de CRP și T3, vârsta și sexul. Rezultatele au fost prezentate ca β (valoarea p). Apoi, am explorat riscul pentru scorul NIHSS sever, scorurile slabe mRS și MMSE asociate cu CRP și T3 prin efectuarea de analize de regresie logistică binară univariată. Rezultatele au fost prezentate ca cote de cote (interval de încredere 95%). În cele din urmă, am evaluat asocierea independentă a severității AVC, a rezultatelor funcționale și cognitive slabe cu concentrațiile de T3 și CRP prin efectuarea de analize de regresie multivariată ajustând factorii care au fost asociați cu severitatea AVC în analizele univariate anterioare. Valorile $p < 0,05$ au fost considerate semnificative statistic.

Rezultate

Analizând distribuția pe vârstă și pe sexe a populației studiate, s-a constatat că vârsta medie a fost de $68,8 \pm 10,08$ ani, cu vârsta cuprinsă între 47 și 94 de ani. Mai mult de jumătate dintre pacienți erau bărbați (51,67%) și 71,67% proveneau din mediul urban. Șaizeci și cinci (54,16%) de pacienți au avut AVC aterotrombotic, 32 (26,67%) AVC ocluziv al vaselor mici, 17 (14,16%) AVC cardioembolic, iar la 6 (5%) pacienți diagnosticul a fost altă cauză/cauză incertă a AVC. Caracteristicile demografice, factorii de risc cardiovascular, CRP și nivelurile T3 sunt prezentate în tabelul XVI.

Severitatea AVC evaluată cu scorul NIHSS a evidențiat un scor mediu de $9,78 \pm 3,97$, cu 32 de pacienți (26,67%) stratificați ca NIHSS ușor, 65 de pacienți (54,16%) ca NIHSS moderat și 23 de pacienți (19,16%) ca NIHSS sever. Scorul NIHSS sever a fost mai frecvent la femei 60,87% comparativ cu 39,13% la bărbați. Pe baza subtipului de AVC din clasificarea TOAST relevă că 18,46% dintre pacienții cu AVC cu ateroscleroză arterelor mari, 47,05% dintre cei cu AVC cardioembolic și 6,25% dintre cei cu AVC cu ocluzie a arterelor mici prezintă scor NIHSS sever (tabelul XVI). Factorii de risc pentru AVC, cum ar fi fibrilația atrială (17,39%) și DZ de tip 2 non insulinonecesitant (43,48%), s-au dovedit a fi mai frecvent asociați cu scorul NIHSS sever.

S-a observat o corelație pozitivă a severității AVC cu nivelurile CRP ($r = 0,698$, $p = 0,000$) și o corelație negativă cu concentrațiile T3 ($r = -0,206$, $p = 0,024$). Analizele de regresie liniară univariată au arătat că severitatea scorurilor NIHSS a fost asociată cu o concentrație mai mare de CRP ($\beta = 0,583$, $p = 0,000$) și o concentrație mai mică de T3 ($\beta = -0,185$, $p = 0,043$). Analizele de regresie logistică binară au arătat că nivelurile CRP [OR = 1,33; 95% CI (1,15-1,54), $p = 0,000$], dar nu și cu nivelul T3 [OR = 0,538; 95% CI (0,149-1,95), $p = 0,346$], au fost asociate cu severitatea scorului NIHSS la internare. În analizele de regresie multivariată, scorul NIHSS mai slab a rămas asociat independent doar cu niveluri mai mari ale CRP ($\beta = 0,583$, $p = 0,000$). Au fost raportate niveluri ridicate ale CRP în toate subtipurile de AVC, valorile medii ale CRP au fost semnificativ mai mari în AVC cardioembolic ($25,69 \pm 32,4$ mg/dL), urmat AVC aterotrombotic al vaselor mari ($14,34 \pm 23,9$ mg/dL) și AVC lacunar ($7,4 \pm 10,76$ mg/dL) (tabelul XVII).

Tabelul XVI - Caracteristici demografice, factori de risc cardiovascular, CRP și niveluri T3

| Characteristics of ischemic stroke patients | Mild NIHSS | | Moderate NIHSS | | Severe NIHSS | | P value |
|---|--------------|----------------|----------------|--------|--------------|--------|---------|
| | n | % | N | % | N | % | |
| Total (n = 120) | 32 | 26.67% | 65 | 54.16% | 23 | 19.16% | .000 |
| Male | 16 | 50% | 33 | 50.77% | 9 | 39.13% | .135 |
| Female | 16 | 50% | 32 | 49.23% | 14 | 60.87% | |
| Median age (±SD) | 65.5 (±9.88) | 70 (±9.77) | 69 (±10.51) | .810 | | | |
| Environment | | | | | | | |
| Rural | 9 | 28.13% | 18 | 27.7% | 7 | 30.43% | .931 |
| Urban | 23 | 71.87% | 47 | 72.3% | 16 | 69.57% | |
| History of ischemic stroke | 6 | 18.75% | 9 | 13.84% | 5 | 21.74% | .417 |
| Cigarette smoking | 14 | 43.75% | 42 | 64.62% | 11 | 47.83% | .168 |
| Alcohol abuse | 14 | 43.75% | 26 | 40% | 5 | 21.74% | .230 |
| Hypertension | | | | | | | |
| Grade 1 | 3 | 9.37% | 6 | 9.23% | 2 | 8.7% | .810 |
| Grade 2 | 16 | 50% | 23 | 35.38% | 7 | 30.4% | |
| Grade 3 | 10 | 31.25% | 25 | 38.46% | 12 | 52.17% | |
| Atrial fibrillation | 4 | 12.5% | 9 | 13.84% | 4 | 17.39% | .867 |
| Obesity | 7 | 21.88% | 21 | 32.3% | 8 | 34.78% | .000 |
| Hypercholesterolemia | 7 | 21.88% | 30 | 46.15% | 4 | 17.39% | .008 |
| Hypertriglyceridemia | 3 | 9.37% | 24 | 36.93% | 5 | 21.74% | .234 |
| Disturbances of carbohydrate metabolism | | | | | | | |
| Impaired glucose tolerance | 9 | 28.13% | 18 | 27.7% | 4 | 17.39% | .500 |
| Type 2 noninsulin requiring diabetes mellitus | 6 | 18.75% | 17 | 26.15% | 10 | 43.48% | .076 |
| Type 2 insulin requiring diabetes mellitus | 1 | 3.12% | 4 | 6.15% | 1 | 4.34% | .717 |
| Laboratory results | | | | | | | |
| T3 (nmol/L) (±SD) | 1.17 (±.25) | 1.18 (±.32) | 1.04 (±.27) | .012 | | | |
| CRP (mg/dL) (±SD) | 1.59 (±1.33) | 13.09 (±19.28) | 32.6 (±33.43) | .000 | | | |
| Stroke subtypes | | | | | | | |
| Large-artery atherosclerosis | 13 | 20% | 40 | 61.54% | 12 | 18.46% | .010 |
| Cardioembolism | 3 | 17.65% | 6 | 35.3% | 8 | 47.05% | |
| Small-artery occlusion | 12 | 37.5% | 18 | 56.25% | 2 | 6.25% | |
| Other determined | 1 | 100% | 0 | 0% | 0 | 0% | |
| Undetermined | 3 | 60% | 1 | 20% | 1 | 20% | |

Bold values indicate that they are statistically significant.

Abbreviations: CRP, C-reactive protein; NIHSS, National Institutes of Health Stroke Scale; SD, standard deviation; T3, triiodothyronine.

Tabelul XVII - Distribuția valorilor medii CRP și T3 în diferite subtipuri de AVC

| | LAA | CE | SAA | UN | P |
|-------------------------|---------------|---------------|--------------|-------------|------|
| CRP (mg/dL) (mean ± SD) | 14.34 (±23.9) | 25.69 (±32.4) | 7.4 (±10.76) | 7.7 (±8.86) | .058 |
| T3 (nmol/L) (mean ± SD) | 1.13 (±.28) | 1.10 (±.37) | 1.22 (±.28) | 1.15 (±.21) | .527 |

Abbreviations: CRP, C-reactive protein; CE, cardioembolic; LAA, large artery atherosclerosis; SAA, small artery atherosclerosis; T3, triiodothyronine; UN, undetermined etiology.

Tabelul XVIII - Rezultate cognitive și funcționale

| Mini mental state examination (n = 118) | |
|---|--------------|
| Mean MMSE score | 16.87 ± 7.66 |
| Poor cognitive outcome (score ≤ 24) | 74.16% |
| Modified Rankin scale (mRS) (n = 120) | |
| Mean mRS | 3.15 ± .99 |
| Poor functional outcome (score > 3) | 30.8% |

Durata medie a spitalizării a fost de 9,59±3,13 zile. Scorul mediu MMSE la externare a fost de 16,86±7,67, 74,16% dintre pacienți având un scor ≤24 (tabelul XVIII). S-a observat o corelație negativă a scorului MMSE cu nivelurile CRP ($r = -0,517$, $p = 0,000$) și o corelație pozitivă cu concentrațiile T3 ($r = 0,196$, $p = 0,032$). În analiza de regresie liniară univariată, prognosticul cognitiv slab a fost asociat cu nivelurile CRP ($\beta = 0,441$, $p = 0,000$), dar nu și cu concentrațiile T3 ($p = 0,142$). La externare, mRS medie a fost de 3,15±0,99, 30,83% dintre pacienți având un scor >3 (tabelul XVIII). Am constatat că rezultatul funcțional slab la externare folosind mRS a fost corelat pozitiv cu nivelul CRP seric ($r = 0,392$, $p = 0,000$)

și negativ cu concentrațiile T3 ($r = -0,193$, $p = 0,034$) la internare. Rezultatul funcțional slab la externare a fost asociat cu niveluri mai ridicate de CRP la internare ($\beta = 0,457$, $p = 0,000$), dar nu și cu concentrații T3 ($p = 0,100$). În analizele de regresie logistică binară, concentrațiile mai mari de CRP la internare nu au fost asociate cu risc crescut de funcționare deficitară [OR = 1,035; 95% CI (0,996-1,076), $p = 0,080$] dar au fost asociate cu rezultate cognitive slabe [OR = 0,608; 95% CI (0,467-0,790), $p = 0,000$] la externare. Concentrațiile mai scăzute de T3 liber la internare nu au fost asociate nici cu risc crescut pentru rezultate cognitive slabe [OR 1,433; 95% CI (0,271-7,590), $p = 0,672$] și nici pentru rezultatele funcționale la externare [OR = 0,769; 95% CI (0,181-3,261), $p = 0,722$].

Utilizând analiza curbei ROC, am detectat un nivel cut-off al CRP seric la internare de 3,035 mg/dL pentru a prezice o severitate ridicată a AVC cu o sensibilitate de 79,7% și o specificitate de 75,6% (AUROC=0,860), un prognostic cognitiv scăzut utilizând MMSE cu o sensibilitate de 75,6% și o specificitate de 83,3% (AUROC = 0,748) și un prognostic funcțional slab folosind mRS cu o sensibilitate de 83,8% și o specificitate de 49,4 % (AUROC=0,864). O valoare cut-off pentru T3 de 1115 nmol/L la internare a fost observată pentru a prezice severitatea AVC cu o sensibilitate de 58,2% și o specificitate de 58,5% (AUROC = 0,526), un prognostic cognitiv prost cu un sensibilitate de 66,7% și o specificitate de 58,9% (AUROC = 0,633) și un rezultat funcțional slab cu o sensibilitate de 70,5% și o specificitate de 55,4% (AUROC = 0,614). În analiza raportului de probabilitate, folosind împreună nivelurile CRP și T3 ca factori de prognostic, a rezultat o probabilitate de 53,5% de a prezice un rezultat funcțional slab și o probabilitate de 80,42% de a prezice un rezultat cognitiv slab la externare la pacienții cu AVC.

Discuții

CRP este un predictor al bolii cerebrovasculare și al bolii vasculare periferice, precum și al morții subite. Astfel, CRP ca marker inflamator a atras atenția clinică ca marker predictiv al AVCI. Datele experimentale demonstrează că reacția inflamatorie acută ca răspuns la ischemia cerebrală ar avea loc în primele 2 ore de la debut (Rothwell & Relton, 1993). Cu toate acestea, datele sunt limitate în ceea ce privește evoluția în timp a răspunsurilor în faza acută la om. Montaner și colab. (Montaner, et al, 2001) au descris un vârf de IL-6 la 24 de ore după apariția simptomelor. Di Napoli (Di Napoli, 2001) a descris o creștere a CRP în decurs de 3 ore după AVC în comparație cu starea anterioară. Analiza unui subgrup dintr-un studiu observațional prospectiv a concluzionat că nivelurile CRP mai mari de 1,01 mg/dL au

fost asociate cu un prognostic nefavorabil. Di Napoli și colab. (Di Napoli & Papa, et al., 2001) au studiat în decurs de un an influența prognostică a CRP măsurată în decurs de 24 de ore după AVCI și au descris o asociere între nivelurile crescute ale CRP și prognosticul nefavorabil.

În studiul nostru am demonstrat o asociere semnificativă statistic ($p < 0,05$) între nivelurile ridicate ale CRP și severitatea AVC evaluate cu scorul NIHSS și rezultate cognitive și funcționale slabe la externare. Un nivel seric al CRP de 3.035 mg/dL la internare prezice o severitate mai mare a AVC cu o sensibilitate de 79,7% și o specificitate de 75,6%, un rezultat cognitiv mai slab cu o sensibilitate de 75,6% și o specificitate de 83,3%, și un rezultat funcțional mai slab, cu o sensibilitate de 83,8% și o specificitate de 49,4%. Aceste rezultate confirmă faptul că nivelul ridicat de CRP poate fi utilizat ca indicator de prognostic în AVCI.

Alte studii au raportat creșteri semnificative ale nivelurilor CRP la pacienții cu AVC cardioembolic (Terruzzi, et al., 2008). În studiul nostru, am observat, de asemenea, cel mai înalt nivel de CRP în subtipul de AVC cardioembolic, urmat de aterotromboza vasele mari. În mai multe studii, nivelul ridicat al CRP a fost asociat cu rezultate mai slabe în angina instabilă și infarctul miocardic (Liuzzo, et al., 1993). Reacția inflamatorie contribuie la leziuni neuronale secundare după AVC (Irimie ca, et al., 2018). Nivelurile CRP au fost ridicate în faza acută a AVC și aceasta persistă ridicat la supraviețuitorii AVC (Beamer, et al., 1998). Progresia bolii vasculare poate apărea deoarece o stare inflamatorie cronică poate persista după faza acută a AVC.

Au fost descrise multiple modificările neuroendocrine după AVC care fie au un rol adaptativ, fie sunt considerate disfuncții ale sistemului endocrin. AVC induce o reacție inflamatorie sistemică în care citokinele proinflamatorii joacă un rol important în apariția sindromului de T3 scăzut prin inhibarea centrală a axei HPT și afectarea producerea periferică de T3 (Bunevicius, et al., 2015). Sindromul de T3 scăzut este frecvent întâlnit la pacienții în stare critică care au sindrom de boală non-tiroidiană. Există unele dovezi care sugerează că hormonii tiroidieni sunt neuroprotectori în contextul AVCI, iar concentrațiile serice mai scăzute ale T3 sunt asociate cu o mortalitate și o rată de handicap mai mari la pacienții cu AVC (Ambrosius, et al., 2011). Cu toate acestea, datele privind asocierea dintre nivelurile T3 și rezultatele funcționale după AVC sunt contradictorii. Mai multe studii sugerează că nivelurile scăzute de T3 în AVCI acut sunt asociate cu o severitate mai mare a AVC și rate mai mari de mortalitate

(Ambrosius, et al., 2011; Neidert, et al., 2011). Conform unui studiu retrospectiv care a analizat 1072 de pacienți cu AVC ischemic, concentrația scăzută a T3 a fost un predictor independent al rezultatului funcțional slab (Xu, et al., 2016). Într-un studiu al lui Neidert și colab. (Neidert, et al., 2011) s-a raportat că concentrațiile totale mai scăzute ale T3 la internare au fost legate de rezultate funcționale mai proaste la 90 de zile și la 1 an după AVCI, dar în analizele multivariate concentrațiile totale de T3 nu au prezis independent rezultate mai slabe. În studiul nostru, am observat că o concentrație mai mică a T3 a fost asociată statistic doar cu severitatea scorurilor NIHSS, dar nu și cu rezultate funcționale și cognitive mai slabe. Deși studiile anterioare au demonstrat o asociere între nivelurile scăzute de T3 și rezultatele slabe, este probabil ca acest studiu să nu fi putut detecta o asociere. Cu toate acestea, dozarea concentrațiilor CRP și T3 poate fi utilizată pentru a prezice evoluția severă la pacienții cu AVCI. Studiul nostru a dus la o probabilitate de 53,5% de a prezice un rezultat funcțional slab și de 80,42% de a prezice un rezultat cognitiv slab la pacienții cu AVC la externare.

Concluzii

Niveluri mai mari ale CRP și concentrațiile mai scăzute ale T3 au fost asociate cu severitatea clinică a AVC la internare. Rezultatele cognitive și funcționale slabe la externare au fost asociate cu niveluri ridicate de CRP, dar nu și cu concentrațiile T3. O mai bună înțelegere a factorilor inflamatori și a răspunsului neuroendocrin în AVCI acut și implicit pentru stratificarea pacienților post-AVC în grupuri cu risc relativ ridicat și cu risc scăzut, în funcție de nivelurile CRP și T3, poate facilita definirea regulilor de predicție pentru rezultatele funcționale și cognitive.

Alte publicații care tratează teme interdisciplinare au fost:

1. Abăitanței A., Minea DI, **Irimie M.** Acrokeratoza paraneoplazică (Sindrom Bazex) ca semn revelator al unei neoplazii. *Jurnalul Medical Brașovean*. 2022; 2;55-57. ISSN 1841-0782, e-ISSN 2247-4706; <https://doi.org/10.31926/jmb.2022.2.8>
2. **Irimie M.**, Irimie CA.: Prurigo Pigmentosa Induced by the Ketogenic Diet. *Bulletin of the Transilvania University of Brasov, Series VI: Medical Sciences* 2022; Vol. 15(64) No. 2 (2022).

3. Irimie C.A., Vârciu M.S., Găitănar A.L., **Irimie M.** A rare case of ectopic parathyroid cyst associated with Hashimoto thyroiditis. *Journal of Clinical and Translational Endocrinology: Case Reports*. 19 (2021) 100074 [10.1016/j.jecr.2020.100074](https://doi.org/10.1016/j.jecr.2020.100074)
4. **Irimie M.**, Scârneciu A., Kelemen O., Fekete G.L., Irimie C.A. Prurigo Nodularis Associated with Autoimmune Polyendocrinopathy. *Dermato-Venerologia (Buc.)*. 2019;64(4):19-24.
5. Irimie M. Indicații off label ale terapiilor biologice în dermatologie. *Jurnalul Medical Brașovean*. 2016; 1:42-52.
6. Irimie M. Onychomadesis following Hand-Foot-Mouth Disease – Observations on Five Cases. *Bulletin of the Transilvania University of Brasov, Series VI: Medical Sciences* 2015; vol. 8 (57) No. 2: 19-22.
7. Fekete Gy.L., Irimie M., Fekete G. Caz clinic de carcinom spinocelular verucos apărut pe radiodermita cronică. *Jurnalul Medical Brașovean* 2015; 1:54-56.
8. Irimie M., Pop G., Vereguț V., Rogoz S. Carcinom spinocelular terebrant apărut pe lichen plan hipertrofic. *Jurnalul Medical Brașovean* 2015; 1:57-60.
9. Oanță A., Irimie M., Morariu S.H. A Case of pachydermoperiostosis in the Context of familial Blepharoptosis. *Bulletin of the Transilvania University of Brasov, Series VI: Medical Sciences* 2014; vol. 7 (56) No. 2: 121-124.
10. Irimie C.A., Minea D.I., Nedelcu L., **Irimie M.**: Gender Distribution of Risk Factors in Ischemic Stroke in Hospital of Psychiatry and Neurology from Brasov. *Bulletin of the Transilvania University of Brasov, Series VI: Medical Sciences* 2014; vol. 7 (56) No. 2: 53-60.
11. **Irimie Marius**, Irimie C., Pascu A. Moga M. Pruritul cronic – un semn paraneoplazic? *Jurnalul Medical Brașovean* 2014; 1:29-34.
12. Vârciu M., Irimie C.A., **Irimie M.**: A Case of Hypogonadotropic Hypogonadism in Association with Interemispheric Lipoma and Hypoplasia of the Corpus Callosum. *Bulletin of the Transilvania University of Brasov, Series VI: Medical Sciences* 2014; vol. 7 (56) No. 1: 75-80.

1.3. Rezultatele cercetării în domeniul medicinei integrative

Medicina integrativă reprezintă o abordare a asistenței medicale care include practici care nu fac parte în mod tradițional din medicina convențională, cum ar fi plante și suplimente, meditație, coaching pentru sănătate, acupunctură, masaj, mișcare și nutriție.

Medicina integrativă în dermatologie cuprinde o mare varietate de metode de diagnostic și tratament care completează sau înlocuiesc practica dermatologică convențională. De asemenea, este denumită dermatologie holistică deoarece ia în considerare și se adresează întregii persoane, inclusiv aspectelor fizice, mentale, emoționale și spirituale ale vieții individului. Dermatologia holistică se bazează pe o bază extinsă de cunoștințe care include medicina complementară și alternativă, practica convențională și cele mai recente descoperiri ale cercetării. Alegerile sale diagnostice și terapeutice sunt făcute prin combinarea acestor trei baze de cunoștințe, în ceea ce ar putea fi numit și dermatologie integrativă.

Sistemele alternative de asistență medicală luate în considerare de dermatologia holistică pot include practici tradiționale, cum ar fi medicina tradițională chineză, medicina ayurvedică, medicina populară americană, homeopatie, împreună cu tehnici dezvoltate mai recent din chiropractică, medicină energetică, medicina funcțională și modalități psihosomatice. Mai mult, dermatologia holistică include orice altă tehnică care funcționează sau are sens pe baza științei sau a observației.

Buna practică a medicinei complementare și alternative are rădăcinile în știința de bază și experiența clinică, dar de multe ori îi lipsește nivelul de dovezi pe care îl cere medicina științifică, alopata. În plus, practicile medicinei complementare și alternative apar și sunt dezvoltate diferit de practicile convenționale. De exemplu, atunci când un număr tot mai mare de experiențe anecdotice este susținut de înțelegerea mecanismelor subiacente ale patologiei, sunt folosite abordări ale medicinei complementare și alternative speciale ale bolii, chiar înainte ca metodele să fie validate în mod obișnuit. Multe dintre aceste metode sunt dificil de studiat sau evaluat folosind metode de cercetare convenționale, deoarece se referă mai degrabă la individ decât la boala în sine. Multe metode și practici ale medicinei complementare și alternative au fost încorporate treptat în practicile convenționale, iar unele au câștigat acceptare și utilizare pe scară largă.



Review

Biochemical and Immunological implications of Lutein and Zeaxanthin

Javaria Zafar ¹, Amna Aqeel ¹, Fatima Iftikhar Shah ¹, Naureen Ehsan ¹, Umar Farooq Gohar ¹, Marius Alexandru Moga ², Dana Festila ^{3,*}, Codrut Ciurea ^{2,*}, Marius Irimie ² and Radu Chicea ⁴

Zafar J, Aqeel A, Shah FI, Ehsan N, Gohar UF, Moga MA, Festila D, Ciurea C, Irimie M, Chicea R. Biochemical and Immunological implications of Lutein and Zeaxanthin. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22(20):10910. <https://doi.org/10.3390/ijms222010910>

De-a lungul istoriei, natura a fost recunoscută pentru că o sursă primordială de diferite molecule bioactive dintre care carotenoizii umani câștigă o atenție semnificativă. Dintre cei 750 de carotenoizi naturali, luteina, zeaxantina și metaboliții lor oxidativi sunt acumulați selectiv în regiunea maculară a ființelor vii. Datorită aplicațiilor lor vaste în industriile alimentare, furajere, farmaceutice și nutraceutice, piața globală a luteinei și zeaxantinei este în continuă expansiune, dar sinteza chimică, extracția și purificarea acestor compuși din repertoriul lor natural, de exemplu, plante, este oarecum costisitoare și dificilă din punct de vedere tehnic. Nutraceuticele reprezintă produse pe bază de nutrienți în concentrații crescute, care sunt extrase din surse alimentare integrale și sunt compatibili în totalitate cu organismul uman, și având beneficii pentru sănătate. O categorie specială o reprezintă nutraceuticele cutanate îngrijirii pielii din interior. Acestea conțin substanțe cu beneficii demonstrate în ceea ce privește menținerea aspectului tânăr al pielii. În acest sens, carotenoizii microbieni, precum și microalgele sunt considerați o alternativă atractivă la provocările menționate mai sus. Prin tehnicile de inginerie genetică și instrumente de editare genetică precum CRISPR/Cas9, se poate realiza supraproducția de luteină și zeaxantină în microorganisme, dar trebuie făcute aplicațiile la scară comercială ale unor astfel de proceduri. Mai mult, acești carotenoizi sunt foarte instabili și susceptibili la degradarea termică și oxidativă. Prin urmare, esterificarea acestor xantofile și microîncapsularea cu materiale adecvate pot crește durata lor de valabilitate și pot îmbunătăți aplicarea lor în industria alimentară. Cu activitățile lor antioxidante puternice, acești carotenoizi apar ca molecule de importanță vitală în bolile cronice degenerative, maligne și antivirale.

În timp ce la oameni și animale, anumiți oxicarotenoizi ciclici, adică luteina (L) și zeaxantina (Z), se acumulează în mare măsură ca pigmenți maculari în retină și acționează nu numai ca precursori pentru vitamina A, coloranți naturali, aditivi din alimente sau industria furajelor, dar și ca agent chimio-preventiv netoxic esențial împotriva cancerului uman prin modificarea răspunsurilor imunologice (Bernstein, et al., 2016). Acești carotenoizi din retină, în special cu concentrație mai mare în șanțul foveal (0,1–1 mM), acționează ca antioxidanți sau filtre de lumină albastră împotriva stresului oxidativ, care este o consecință a expunerii excesive la lumină. Raportul luteină: zeaxantină: mezo-zeaxantină în retina periferică este de aproximativ 3:1:0. Cu toate acestea, concentrația de carotenoide menționate mai sus crește de 100 de ori în lutea maculară și raportul se modifică la 1:1:1 (Granado, et al., 2003).

În afară de retină, luteina este prezentă într-un număr de țesuturi umane: sânge, ficat, rinichi, plămâni. Cu toate acestea, luteina și zeaxantina nu pot fi sintetizate *de novo*, chiar dacă omul ingeră aproximativ 50 de carotenoizi din dietă și peste 20 de carotenoizi diferiți se găsesc de obicei în ser (Maoka, 2009). De obicei, legumele cu frunze verzi abundă în luteină și zeaxantină și mențin nivelul acestora din retină, ser și țesutul adipos. Concentrația de carotenoizi din ser tinde să reflecte cele mai recente aporturi ale acestora, în timp ce țesuturile adipoase sunt un bun indicator al aporturilor pe termen lung. Acești carotenoizi maculari au un rol decisiv în prevenirea tulburărilor oftalmologice precum degenerescența maculară legată de vârstă, retinita pigmentară și cataracta (Landrum & Bone, 2001). Preocuparea este către formularea de produse bogate în luteina și zeaxantina pentru a exploata rolul lor în aplicațiile terapeutice. Sunt folosite diverse tehnici pentru a minimiza pierderea conținutului de carotenoizi în timpul procesării și depozitării alimentelor. Acestea includ în principal înghețarea, adăugarea de antioxidanți și îndepărtarea oxigenului din recipientele sigilate ermetic în vid. În plus, tehnicile de inginerie a proteinelor au fost utilizate recent pentru a îmbunătăți perioada de valabilitate și activitate a luteinei și zeaxantinei (Zafar, et al., 2021).

Tabelul XIV - Concentrația luteinei și zeaxantinei în diferite părți ale plantelor

| Source | Common Names | Concentration of Lutein (mg/100g) | Concentration of Zeaxanthin (mg/100g) | Cumulative Concentration of Lutein + Zeaxanthin (mg/100g) | General Applications |
|---|------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|---|--|
| Vegetables: | | | | | |
| <i>Asparagus officinalis</i> L. | Garden asparagus/ Sparrow grass | Cooked asparagus | | 0.382–0.653 (in raw asparagus) | Antioxidant property |
| | | 0.991 | 0.22 | | |
| <i>Asparagus acutifolius</i> | Wild asparagus | 0.544–1.913 | N.A | N.A | Nutritional supplements |
| <i>Brassica oleracea</i> <i>var. italica</i> | Broccoli | Cooked broccoli | | 1.079 | Antioxidant property |
| | | 3.11–3.960 | 1.73628 | | |
| <i>Solanum nigrum</i> L. | European black nightshade | 84.38 | N.A | N.A | Nutritional supplements |
| <i>Hibiscus cannabinus</i> L. | Kenaf | 104.24 | 4.59 | N.A | Antioxidant property |
| <i>Capsicum annuum</i> | Green chilies | 1.902 | 0.06285 | 13.74 | Antioxidant property |
| <i>Solanum tuberosum</i> | Potato | 0.1352–0.1524 | 0.0077 | N.A | Nutritional supplement |
| <i>Daucus carota</i> L. | Wild carrot | 40.17 | 0.59 | N.A | Antioxidant property |
| <i>Lactuca sativa</i> | Lettuce | 3.824 | N.A | 2.313 | Ophthalmological significance |
| Herbaceous parts | | | | | |
| <i>Ocimum basilicum</i> L. | Basil | 4.2–8.3 | 0.2–0.6 | 6.634 ± 0.410 | Nutritional supplements |
| <i>Petroselinum crispum</i> | Parsley | 4.326 | 1.236 | 5.562 | Nutritional supplements |
| <i>Coriandrum sativum</i> | Coriander | 9.920 | N.A | 4.740 ± 4.36 | Adjuvants in food preparation + antioxidants |
| <i>Mentha spicata</i> | Spearmint | 17.74 | 0.28 | 18.00 | Nutritional supplement |
| <i>Elattaria cardamomum</i> | Green or true cardamom | 0.44 | N.A | 0.35 | Antioxidant property |

| Fruits | | | | | |
|-----------------------------------|-----------------|-------------|-------------|-----------------|-------------------------|
| <i>Malpighia emarginata</i> | Barbados Cherry | 9.20 ± 0.23 | 1.14 ± 0.03 | N.A | Antioxidant property |
| <i>Cucurbita maxima</i> | Pumpkin | 10.62 | 0.278 | N.A | Antioxidant property |
| <i>Solanum lycopersicum</i> | Tomato | 0.289 | 0.0144 | 94 | Antioxidant property |
| <i>Citrus X sinensis</i> | Orange | 0.033 | 0.029 | 0.129 | Antioxidant property |
| <i>Vitis vinifera 'Red Globe'</i> | Red grapes | 0.024 | 0.004 | N.A | Antioxidant property |
| Seed/Grain | | | | | |
| <i>Zea mays</i> L. | Corn | 1.47 | 0.01031 | 0.01662–0.02057 | Antioxidant property |
| <i>Triticum durum</i> | Wheat | 1.5–4.0 | 0.00049 | N.A | Nutritional supplements |

Aplicații medicinale ale luteinei și zeaxantinei

Carotenoizii oferă o gamă largă de beneficii nutriționale și de sănătate datorită efectelor lor biologice multiple asupra oamenilor, care includ proprietăți antioxidante, imunomodulatoare și antiinflamatorii.

a. Rolul luteinei și zeaxantinei în tratamentul tulburărilor cognitive

Luteina și zeaxantina reprezintă 66–77% din populația totală de carotenoizi din creier, făcându-le principalii jucători în sănătatea ochilor și a creierului în comparație cu alți membri ai familiei carotenoidelor (Krinsky & Johnson, 2005). Luteina și izomerul său zeaxantina au o legătură neurologică între macula și creier, având astfel un rol în percepție. Luteina și zeaxantina sunt posibili biomarkeri ai concentrațiilor de xantofile din creier și, prin urmare, oferă informații despre concentrațiile de luteină din creier, făcându-le un biomarker critic (Feeney, et al., 2013). Aceasta include relația cu mai multe măsuri ale vitezei de procesare temporală, care este o componentă necesară a funcțiilor senzoriale și cognitive, cum ar fi limbajul, funcția executivă, învățarea și memoria. S-a constatat, de asemenea, că luteina și zeaxantina îmbunătățesc comunicarea joncțională, care este necesară pentru procesarea luminii și dezvoltarea circuitelor neuronale în sistemul vizual din retină (Stahl & Seis, 2001). Acestea sunt, de asemenea, legate de o creștere a vitezei de procesare vizuală și o reducere a zgomotului scotic (Hammond & Wooten, 2005).

b. Rolul luteinei și zeaxantinei în diabet

Luteina poate fi utilă în inversarea injuriei renale diabetice și a inflamației prin proprietățile sale anti-apoptotice și de captare a radicalilor liberi. Nefropatia diabetică este o afecțiune complexă care are ca rezultat formarea de radicali liberi, care acționează ca un stimulent puternic pentru factorii proinflamatori. Luteina din dietă are ca rezultat o reducere a testelor funcției renale serice și urinare (uree și creatinină), indicând că insuficiența renală asociată DZ este ameliorată. Diferitele niveluri ale dozei de luteină reduc în mod semnificativ răspunsurile inflamatorii renale prin scăderea nivelurilor de TNF-, IL-1 și IL-6 (mediatori proinflamatori) în timp ce cresc nivelurile de IL-10 (citokină antiinflamatoare). Suplimentarea sa la o doză mai mare ameliorează leziunile glomerulare și tubulare induse de DZ și infiltratele inflamatorii leucocitare renale, reducând prin urmare factorii de stres oxidativi în țesutul renal (Fatani, et al., 2017). De asemenea luteina ameliorează și retinopatia diabetică (Zafar, et al., 2021).

c. Rolul luteinei și zeaxantinei în cancer

Luteina își prezintă activitatea anticancerigenă prin interacțiunea cu agenții mutageni, incluzând 1-nitropirenul și aflatoxina B1 (Olmedilla, et al., 2002). Mai mult, luteina tinde să activeze gene specifice care sunt implicate în transformările celulelor T după accesul diferiților mitogeni, citokine și antigene. Slattery et al. (Slattery, et al., 2000) au detectat o corelație negativă între consumul alimentar de luteină și cancerul de colon la bărbați și femei. Nivelurile plasmatice ale luteinei la om sunt invers proporționale cu activitatea citocromului CYP1A2, o enzimă implicată în instigarea metabolică a presupuselor substanțe cancerigene umane în ficat. S-a demonstrat că luteina are acțiune chemopreventivă în modelele animale de cancer de colon, ovar și de sân (Kim, et al., 1998).

d. Rolul luteinei și zeaxantinei în afecțiunile hepatice

Dipalmitatul de zeaxantină, cel mai important constituent al fructelor de goji, este implicat în tratamentul ficatului gras alcoolic. Dipalmitatul de zeaxantină vizează receptorii cheie membranari P2x7 iar adiponectina pe receptorul 1 (adipoR1) cu o doză de 10 mg/g în modelele pe șobolan cu steatoză hepatică alcoolică cronică. Prin urmare, semnalele P2 x 7 și adipoR1 reglează căile de fosfatidilinozitol 3-kinaza-Akt și/sau AMP-activat protein kinazeFoxO3a prin restabilirea autofagiei

mitocondriale (mitofagie) care a fost suprimată anterior de intoxicația cu etanol. În plus, dipalmitatul de zeaxantină reduce inflamația hepatică prin blocarea inflamazomului receptorului Nod-like 3 și poate ajuta, de asemenea, la reducerea și prevenirea cicatricilor tisulare și fibroza secundară la nivelul ficatului (Xiao, et al., 2014).

e. Rolul luteinei și zeaxantinei în sarcină

Carotenoizii, în special luteina și zeaxantina, sunt esențiali pentru dezvoltarea vederii și a sistemului nervos. Acești carotenoizi sunt necesari pentru îmbunătățirea activității retinei, a metabolismului energetic și a activității electrice a creierului, împreună cu alte câteva funcții (Zafar, et al., 2021).

Datorită absenței carotenoizilor în majoritatea formulelor pentru sugari, nivelul carotenoizilor nou-născuților și copiilor mici depinde de starea nutrițională a mamei și, de asemenea, de metoda de hrănire a sugarului. Consumul crescut de luteina și zeaxantina al mamei în timpul sarcinii a fost corelat cu inteligența verbală îmbunătățită și capacitatea de a regla comportamentul la mijlocul copilăriei, indicând un posibil avantaj în timpul dezvoltării prenatale (Mahmassani, et al., 2021).

f. Rolul luteinei și zeaxantinei în tratamentul COVID-19

Severitatea COVID-19 este crescută de stresul oxidativ și inflamație, în special în prezența unor boli cronice asociate cu fragilitatea sistemului antioxidant. Pe măsură ce se dezvoltă, provoacă hipoxemie, dificultăți de respirație și sindrom de detresă respiratorie acută. În unele dintre aceste cazuri severe există niveluri ridicate de citokine proinflamatorii care conduc frecvent la deces. NOX2-derived ROS, în special, au fost atribuite activării trombocitelor, care fie crește producția de trombine și agregarea trombocitelor, fie afectează dilatația arterială și disfuncția endotelială (Guzik, et al., 2020). Prin urmare, carotenoizii din dietă sunt cunoscuți pentru stingerea ROS, cum ar fi oxigenul singlet și peroxizii lipidici, în stratul dublu lipidic al membranei celulare. Unele dovezi clare au indicat că cantitățile mari de alfa și beta-caroten, luteină/zeaxantină și carotenoizi totali sunt strâns legate de incidența redusă a stresului oxidativ, inflamației și viceversa (Walston, et al., 2006).

g. Rolul luteinei și zeaxantinei în afecțiuni dermatologice






Prin scăderea cu succes a cantității de stres oxidativ din piele, aplicarea locală a luteinei ajută la menținerea umidității și are efecte anti-îmbătrânire. Extractul de flori de galbenele (*Tagetes erecta*) este folosit în principal pentru a produce o marcă de luteină numită luteină FloraGLO® care poate fi administrată oral sau poate fi aplicată topic. Zece miligrame de luteină zilnic îmbunătățesc elasticitatea, hidratarea și conținutul de lipide al pielii (Tabor & Blair, 2009). Cu toate acestea, procesele chimice din spatele efectelor pozitive ale xantofilelor (luteină/zeaxantina) asupra pielii rămân neclare. Dar, Li și colab. (Li & Turner, et al., 2015) au demonstrat recent că luteina și zeaxantina modifică expresia genelor prin stimularea sintezei de hialuronan într-un model de keratinocite umane. Ca rezultat, aceste modificări oferă o bază mecanicistică pentru beneficiile clinice ale xantofilelor.

Concluzii

Luteina și zeaxantina sunt xantofilele tipice care îmbunătățesc calitatea alimentelor datorită abundenței lor ridicate în regnul *Plantae* și *Protista*. Deși floarea de gălbenele și anumite tulpini de eubacterii îndeplinesc cererea globală de luteină și zeaxantină într-o oarecare măsură, există încă o oportunitate uriașă de a contribui la cererea globală de luteină și zeaxantină naturală. Numeroase investigații, atât preclinice, cât și clinice, au indicat că luteina și zeaxantina pot încetini cursul afecțiunilor retrovirale, maligne și oculare, mai ales prin reducerea radicalilor liberi și protejându-i de deteriorarea oxidativă. Datorită caracteristicilor lor bioactive benefice, conceptul de integrare a luteinei și zeaxantinei în nutriție, nutraceutice sau cosmetice câștigă tot mai mult interes.

Article

Biomolecular Evaluation of *Lavandula stoechas* L. for Nootropic Activity

Aamir Mushtaq^{1,2}, Rukhsana Anwar¹, Umar Farooq Gohar³, Mobasher Ahmad^{1,2}, Romina Alina Marc (Vlaic)^{4,*}, Crina Carmen Mureșan⁴, Marius Irimie^{5,*} and Elena Bobescu⁵

Mushtaq A, Anwar R, Gohar UF, Ahmad M, Marc Vlaic RA, Mureșan CC, Irimie M, Bobescu E. Biomolecular Evaluation of *Lavandula stoechas* L. for Nootropic Activity. *Plants (Basel)*. 2021 Jun 21;10(6):1259. doi: 10.3390/plants10061259.

În acest studiu am demonstrat eficacitatea *Lavandula Stoechas* L în reducerea stresului oxidativ și îmbunătățirea apărării antioxidante. *Lavandula stoechas* L. (Lamiaceae) este o plantă aromatică și medicinală din regiunea mediteraneeană. A fost cel mai popular remediu popular pentru gestionarea tulburărilor digestive, a bolilor renale, a DZ, a hiperlipidemieii, a tusei, a astmului, a durerilor de cap și a simptomelor gripale (Benítez, et al., 2010). Este, de asemenea, recunoscut pentru efectele sale extinse în tratamentul migrenelor, epilepsiei și tulburărilor legate de memorie (Mushtaq, et al., 2021). Planta este bogată în camfor, eritrodiol, eucaliptol, fenconă, lavanol, longipen-2-ene, longipen-2-ene monoacetat, lupeol, luteolină, mirtenol, acid oleanolic, acetat de pinocarvil, terpineol, acid ursolic, acid vergatic, vitexină, alfa-amirina, beta-sitosterol și o varietate de compuși aromatici (Bouyahya, et al., 2017).

Acest studiu a fost efectuat pentru a identifica biomoleculele sale, care sunt responsabile pentru îmbunătățirea memoriei. Extractul apos de *L. stoechas* a fost mai întâi purificat prin cromatografie pe coloană lichidă. Frațiile purificate au fost analizate pentru activitatea anticolinesterază *in vitro*. Frația care a produs cea mai bună activitate anti-holinesterazică a fost numită fracțiune activă a *L. stoechas* (AfL.s). AfL.s a redus semnificativ ($p < 0,001$) conținutul de acetilcolinesterază și malondialdehidă din creierul șoarecilor, dar, pe de altă parte, a îmbunătățit nivelul colin acetiltransferazei, catalazei, superoxid dismutazei și glutatationului (Mushtaq, et al., 2021).

Studiile biochimice au indicat că nivelul de acetilcolinesterază (AChE) a fost redus semnificativ ($p < 0,001$) la animalele din grupul II (tratate cu scopolamină), în timp ce animalele din grupa VII (AfL.s 18 mg/Kg/po) au prezentat o inhibare maximă a AChE dintre toate grupurile (Figura 4 A). În mod similar,

nivelul de MDA este redus semnificativ ($p < 0,001$) la șoarecii tratați cu AfL.s în comparație cu grupul de control amnezic (care a arătat cel mai mare nivel de MDA) (Figura 4 B). S-a observat că nivelurile de SOD, CAT și GSH au crescut semnificativ în grupul-V (AfL.s 9 mg/Kg/p.o.) printre toate grupurile (Figura 4 C). Această observație duce la faptul că AfL.s posedă o activitate antioxidantă puternică atunci când este utilizat în doze mici.

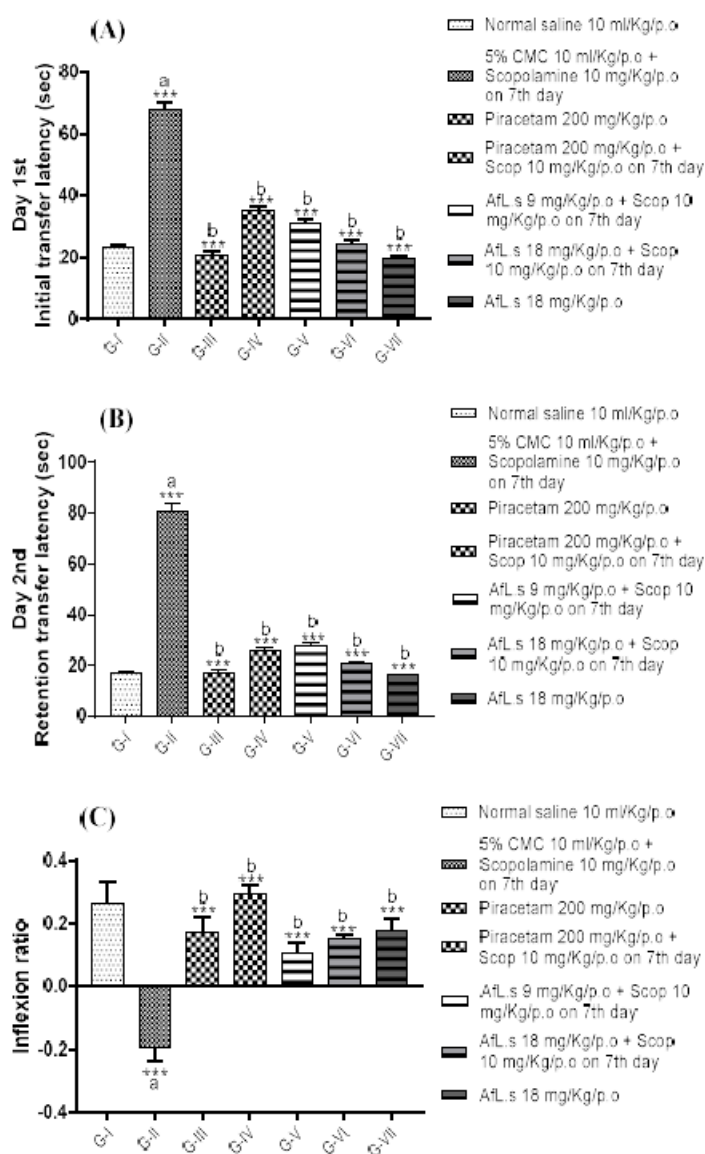


Figura 4 - Efectul AfL.s asupra (A) latenței inițiale de transfer; (B) latența transferului de retenție; (C) raportul de flexie;

Posibilul mecanism antioxidant al AfL.s se datorează prezenței α -tocoferolului, care nu numai că promovează nivelul de glutation în creier, dar provoacă și atenuarea speciilor reactive de oxigen. În





plus, α -tocoferolul este responsabil pentru formarea radicalului tocoferoxil stabil și inert, prin reacția cu radicalul peroxil lipidic (LOO) (Zia-Ul-Haq, et al., 2021).

Deteriorarea oxidativă severă a circuitelor neuronale din creier este o cauză principală a pierderii memoriei. Stresul oxidativ indus de scopolamină este principalul factor din spatele acestei tulburări enzimatică. Tratamentul șoarecilor cu AfL.s nu numai că a redus nivelul de AChE, ci și a crescut semnificativ ($p < 0,001$) nivelul ChAT în creierul șoarecilor. Se propune că creșterea nivelurilor ChAT de către AfL.s este cauzată de acțiunea antioxidantă a α -tocoferolului asupra creierului. În mod similar, fenetilamina prezentă în AfL.s este responsabilă pentru eliberarea ACh mediată de enzime în creier. Rezultatele indică, de asemenea, în mod clar că animalele tratate numai cu AfL.s, fără administrare prealabilă sau ulterioară de scopolamină, au produs cea mai mare creștere a nivelurilor de ChAT în creier (Mushtaq, et al., 2021).

Doi compuși principali - tocoferolul și fenetilamina, prezenți în *L. stoechas* - sunt responsabili pentru atenuarea demenței. Alfa-tocoferolul reduce stresul oxidativ al radicalilor liberi din creierul șoarecilor, în timp ce fenetilamina crește nivelul de acetilcolină din hipocampusul creierului șoarecilor. Astfel, se ajunge la concluzia că *L. stoechas* poate fi folosit ca amplificator de memorie. Sunt necesare studii suplimentare pentru a elabora mecanismele sale detaliate, în ceea ce privește îmbunătățirea memoriei și a profilului de toxicitate.

Article

Toxicological Evaluation of Novel Cyclohexenone Derivative in an Animal Model through Histopathological and Biochemical Techniques

Muhammad Kamil ¹, Arifa Fatima ¹, Sami Ullah ^{1,*}, Gowhar Ali ¹, Rasool Khan ², Naila Ismail ³, Mughal Qayum ⁴, Marius Irimie ^{5,*}, Catalina Georgeta Dinu ⁶, Hanadi Talal Ahmedah ^{7,*}
and Maria Elena Cocuz ⁵

Kamil M, Fatima A, Ullah S, Ali G, Khan R, Ismail N, Qayum M, Irimie M, Dinu CG, Ahmedah HT, Cocuz ME. Toxicological Evaluation of Novel Cyclohexenone Derivative in an Animal Model through Histopathological and Biochemical Techniques. *Toxics*. 2021 May 25;9(6):119. DOI: [10.3390/toxics9060119](https://doi.org/10.3390/toxics9060119)

Studiile de toxicitate sunt efectuate pentru a furniza date de siguranță ale potențialilor candidați la medicamente prin determinarea dozelor letale și toxice. În acest studiu a fost evaluat preclinic un nou derivat de ciclohexenonă în ceea ce privește toxicitatea acută și subacută împreună cu potențialul său diabetogen. Rolul semnificativ al ciclohexenonei este bine cunoscut, incluzând activitatea antiinflamatorie, antifungică, antibacteriană, antivirală, anticancerigenă și antimalarică (Zia-UI-Haq, et al., 2021). În plus, studiile de andocare moleculară au arătat o afinitate puternică față de ciclooxigenazei I și II (Cox-I și Cox-II). S-a observat în studiile efectuate că acest derivat a atenuat durerea indusă de vincristină în modelul pe rozătoare, datorită posibilului său efect antinociceptiv și antioxidant (Kamil, et al., 2021).

Toxicitatea acută și subacută au fost evaluate după injectarea intraperitoneală (ip) la șoareci a produsului de cercetare prin doze selectate timp de 21 de zile. Aceasta a fost urmată de evaluarea organelor posibil implicate (ficat, rinichi, inimă și pancreas) prin indicatori biochimici specifici de organ și tehnici histopatologice.

După injectarea intraperitoneală (i.p) a dozelor selectate de derivat de ciclohexenonă (250 mg/kg, 350 mg/kg, 500 mg/kg), nu s-au observat semne de toxicitate preclinică și mortalitate/deces în niciun grup de șoareci tratat până la o doză de 500 mg/kg. Prin urmare, doza letală este de așteptat să fie mai mare de 500 mg/kg.

Valorile medii ale greutății corporale la momentul inițial, în 1-a, a 2-a și a 3-a săptămână de tratament au fost 26,33, 26,83, 27,33 și 27,5 g pentru grupul de control și respectiv, 25,67, 26, 26,17 și, 26,17 g pentru grupul tratat. Nu s-a evidențiat nicio diferență semnificativă ($p > 0,05$) între greutatea corporală a grupurilor tratate și de control.

În a 11-a și a 21-a zile, probele de sânge din grupurile tratate și de control au fost analizate pentru alanin aminotransferaza, aspartat aminotransferaza, creatinina serică, ureea, glicemia, amilaza serică, troponina-I cardiacă și creatinkinază miocardică (CK-MB). Rezultatele acestor indicatori sunt menționate în tabelele XV-XVIII.

Tabelul XV - Indicatori biochimici: ALT și AST în a 11-a și a 21-a zi de tratament.

| Group | Statistical Parameter | Alanine Aminotransferase (ALT, 11th day) | Alanine Aminotransferase (ALT, 21st day) | Aspartate Aminotransferase (AST, 11th day) | Aspartate Aminotransferase (AST, 21st day) |
|---|-----------------------|--|--|--|--|
| Control (n = 6) | Mean ± SD | 94.50 ± 5.089 | 92.17 ± 5.456 | 24.00 ± 3.464 | 24.67 ± 2.805 |
| | Minimum | 87 | 84 | 20 | 21 |
| | Maximum | 100 | 100 | 29 | 28 |
| Treatment (n = 6) | Mean ± SD | 98 ± 3.742 | 94.50 ± 15.681 | 25.50 ± 3.082 | 24.50 ± 3.834 |
| | Minimum | 92 | 72 | 22 | 20 |
| | Maximum | 103 | 120 | 30 | 30 |
| Treated vs. control | p-value | 0.205 | 0.738 | 0.447 | 0.933 |
| Treated (11th day) vs. treated (21st day) | p-value | | 0.606 | | 0.629 |

Tabelul XVI- Indicatori biochimici: ureea și creatinina în a 11-a și a 21-a zi de tratament

| Group | Statistical Parameter | Blood Urea Nitrogen (BUN, 11th Day) | Blood Urea Nitrogen (BUN, 21st Day) | Serum Creatinine (11th Day) | Serum Creatinine (21st Day) |
|-----------------------------|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Control | Mean ± SD | 13.33 ± 1.75 | 18.50 ± 1.871 | 0.517 ± 0.075 | 0.500 ± 0.0894 |
| | Minimum | 11 | 16 | 0.4 | 0.4 |
| | Maximum | 16 | 21 | 0.6 | 0.6 |
| Treatment | Mean ± SD | 26.67 ± 2.73 | 15.17 ± 2.639 | 0.483 ± 0.075 | 0.483 ± 0.0753 |
| | Minimum | 23 | 12 | 0.4 | 0.4 |
| | Maximum | 31 | 19 | 0.6 | 0.6 |
| Treated vs. control | p-value | 0 | 0.03 | 0.461 | 0.734 |
| Treated (11th vs. 21st day) | p-value | | 0 | | 0.734 |

Astfel, studiul de toxicitate subacută nu a arătat nicio diferență semnificativă în indicatorii biochimici în ziua a 11-a și a 21-a între grupurile tratate și cele de control. Cu toate acestea, în valorile ale ureei și ale glicemiei au fost înregistrate diferențe semnificative.

Tabelul XVII- Indicatori biochimici: amilaza și glicemia în a 11-a și a 21-a zi de tratament

| Group | Statistical Parameter | Serum Amylase (U/L) (11th Day) | Serum Amylase (U/L) (21st Day) | Random Blood Glucose (mg/dL) (11th Day) | Random Blood Glucose (mg/dL) (21st Day) |
|---|-----------------------|--------------------------------|--------------------------------|---|---|
| Control (n = 6) | Mean ± SD | 2683.17 ± 26.649 | 2680 ± 23.421 | 83.83 ± 7.35 | 69.33 ± 9.07 |
| | Minimum | 2649 | 2655 | 73 | 60 |
| | Maximum | 2720 | 2700 | 90 | 85 |
| Treatment (n = 6) | Mean ± SD | 2680 ± 23.45 | 2672 ± 17.07 | 43.66 ± 13.89 | 56.67 ± 6.18 |
| | Minimum | 2655 | 2650 | 23 | 48 |
| | Maximum | 2710 | 2700 | 65 | 65 |
| Treated vs. control | p-value | 0.831 | 0.515 | 0.000 | 0.018 |
| Treated (11th day) vs. treated (21st day) | p-value | 0.184 | | 0.508 | |

Tabelul XVIII - Indicatori biochimici: cTn -I și CK-MB în a 11-a și a 21-a zi de tratament

| Group | Statistical Parameter | Cardiac Troponin-I (ng/dL) (cTn-I, 11th Day) | Cardiac Troponin-I (ng/dL) (cTn-I, 21st Day) | Creatinine Kinase-Myocardial Band (U/L) (CK-MB, 11th Day) | Creatinine Kinase-Myocardial Band (U/L) (CK-MB, 21st Day) |
|---|-----------------------|--|--|---|---|
| Control (n = 6) | Mean ± SD | 0.29667 ± 0.055 | 0.25833 ± 0.02483 | 11 ± 2.098 | 13.83 ± 1.871 |
| | Minimum | 0.25 | 0.23 | 9 | 8 |
| | Maximum | 0.4 | 0.27 | 14 | 12 |
| Treatment (n = 6) | Mean ± SD | 0.3 ± 0.0522 | 0.26167 ± 0.0286 | 13.83 ± 2.14 | 13.67 ± 2.160 |
| | Minimum | 0.26 | 0.22 | 12 | 11 |
| | Maximum | 0.4 | 0.3 | 16 | 17 |
| Treated vs. control | p-value | 0.916 | 0.834 | 0.672 | 0.896 |
| Treated (11th day) vs. treated (21st day) | p-value | 0.497 | | 0.786 | |

Tabelul XIX - Scorurile de evaluare histopatologică ale probelor de țesut renal și hepatic ale șoarecilor în a 21-a zi de tratament

| Histopathological Findings | Animal Group-I | | | | | | Animal Group-II | | | | | |
|-------------------------------|----------------|---|---|---|---|---|-----------------|---|---|---|---|---|
| | (Control) | | | | | | (Treated) | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Kidney | | | | | | | | | | | | |
| Hyperemia | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Necrosis | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Inflammatory cell aggregation | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 |
| Fibrosis | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| Glomerular injury | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| Steatosis | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Ectasia/tubular injury | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 |
| Liver | | | | | | | | | | | | |
| Hyperemia | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Necrosis | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Inflammatory cell aggregation | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Fibrosis | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Steatosis | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 3 | 2 | 2 | 2 |

0 none; 1 mild; 2 moderate; and 3 severe.

Evaluarea histopatologică a țesuturilor hepatice, renale, pancreasului și inimii a evidențiat modificări ușoare până la severe sub formă de steatoză, inflamație, fibroză, necroză și leziuni miofibrilare în a 11-a și a 21-a zi de tratament (Tabelul XIX).

În concluzie, studiile de toxicitate acută ale noului compus au arătat că doza letală medie a compusului menționat este de așteptat să fie mai mare de 500 mg/kg, deoarece nu au fost observate semne de toxicitate și mortalitate la această doză. În mod similar, toxicitatea subacută nu a evidențiat modificări semnificative ale biomarkerilor selectați, cu excepția nivelurilor ureei și glicemie. Cu toate acestea, evaluarea histopatologică a arătat efecte toxice ușoare până la moderate asupra ficatului, rinichilor, pancreasului și țesuturilor inimii. Aceste descoperiri arată că noul compus poate fi toxic pentru anumite organe ale corpului dacă este utilizat pe o durată sub-cronică sau cronică.

Cardioprotective, hypotensive and toxicological studies of *Populus ciliata* (Wall. ex Royle)

Fatima Saqib^{a,*}, Asad Ali^a, Hanadi Talal Ahmedah^b, Claudia Alexandrina Irimie^{c,*}, Sebastian Ionut Toma^{c,*}, Bianca Elena Popovici^{c,*}, Marius Moga^c, Marius Irimie^c

Saqib F, Ali A, Ahmedah HT, Irimie CA, Toma SI, Popovici BE, Moga M, **Irimie M.** Cardioprotective, hypotensive and toxicological studies of *Populus ciliata* (Wall. ex Royle). *Biomed Pharmacother.* 2021 Oct;142:112065. DOI: [10.1016/j.biopha.2021.112065](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112065)

Beneficiile pentru sănătate ale medicinei alternative și ale produselor naturiste au dus la creșterea interesului pentru remediile tradiționale utilizate pentru tratamentul afecțiunilor cardiovasculare și a bolilor conexe. *Populus ciliata* (*Salicaceae*) este originar din America de Nord, Asia Centrală și de Nord. Frunzele și tulpina sunt folosite ca tonic, stimulant și demachiant. Frunzele plantelor au activitate antibacteriană (Zia-UI-Haq, 2021). În ciuda numeroaselor avantaje terapeutice împotriva afecțiunilor cardiovasculare și a tulburărilor asociate, nu există niciun studiu raportat asupra *Populus ciliata*. Studiul actual a fost conceput pentru a evalua profilul toxic, efectele cardioprotectoare și hipotensive ale *Populus ciliata* (Wall ex Royle).

Extractul etanolic brut de *Populus ciliata* (Pc. Cr) și fracțiile sale apoase (Pc. Aq) și organice (Pc.Dcm) au fost testate pe aorta izolată de șobolan și iepure având endoteliul intact și respectiv neintact. HPLC a confirmat prezența a patru compuși majori în Pc. Cr, adică acid P-cumeric, acid vanilic, catechină și quercetină. Acești compuși joacă un rol semnificativ în tratamentul hipertensiunii arteriale, IMA și LVH.

Pc. Cr a prezentat efect ionotrop și cronotrop negativ într-un mod dependent de doză pe atriile izolate perechi de iepure. Disponibilitatea scăzută a Ca⁺⁺ citosolic duce la efecte ionotrope și cronotrope. Verapamilul a redus forța de contracție și ritmul cardiac la fel ca Pc.Cr. Deci Pc. Cr poate acționa ca CCB de tip L dependent de tensiune. Pc. Cr & Pc. Aq a relaxat contracțiile induse de PE (1 μM)-induse și K⁺ (80 mM)-induse pe aortă, posibil prin medierea factorului de relaxare derivat din endoteliu (EDRF) în endoteliul intact și a mecanismului de blocare a canalelor de calciu de tip L (CCB) dependent de tensiune în endoteliul neintact.

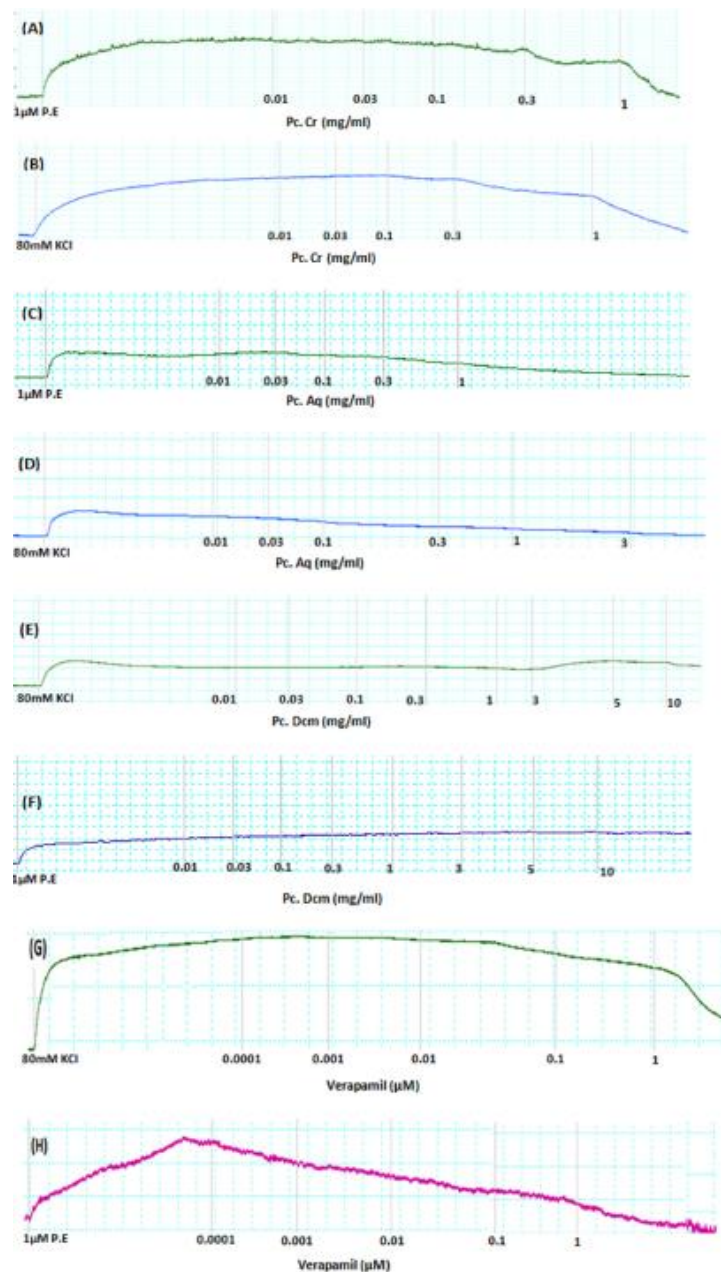


Figura 5 - Trase reprezentând efecte ale: Pc. Cr (A și B), Pc. Aq (C și D), Pc.Dcm (E și F) și verapamil (G și H) pe contracții prin PE (1 μM)-induse și, respectiv, K⁺ (80 mM)-induse, pe aorta de șobolan separată (n). = 5).

Pc. Cr a prezentat activitate antihipertensivă și cardioprotectoare prin scăderea forței de contracție și a frecvenței cardiace pe atriile izolate perechi de iepure și prin reducerea tensiunii arteriale la șobolanul anesteziat. Efectul cardioprotector al Pc. Cr a fost evaluat în infarctul miocardic acut (IMA) indus de izoproterenol și hipertrofia ventriculară stângă (LVH) la șobolani Sprague Dawley (fig. 5). În LVH, Pc. Cr a exercitat efecte pozitive prin scăderea angiotensinei II și reninei și creșterea cGMP și oxidului nitric (NO) cu reducerea fibrozei cardiace, necrozei și dimensiunii celulelor cardiace.

În AMI, Pc. Cr a răspuns eficient prin scăderea markerilor cardiaci creatinina kinazei (CK), a benzii miocardice a creatininei kinazei (CK-MB) și a lactat dehidrogenazei (LDH) în sânge, asociate cu mai puțin edem și necroză. Prezența catechinei, acidului vinalic, acidului P-cumeric și quercetinei identificate prin HPLC susțin eficacitatea Pc. Cr în HTA, IMA și LVH.

Pc.Cr a fost evaluat timp de 14 zile și, respectiv, 28 de zile pentru studiul acut și, respectiv, subacut. Șobolani tratați cu 1500 și 3000 mg/kg pentru toxicitate acută au fost observați cu un comportament normal, fără mortalitate și toxicitate, ceea ce înseamnă că DL50 a fost peste 3000 mg/kg. Pc. Cr nu a prezentat efecte adverse semnificative la șobolani albinos Sprague Dawley după tratamentul acut și subacut în investigația histopatologică.

Pc. Cr a prezentat efect hipotensiv, vasorelaxant și cardioprotector în timpul *studiilor in vitro* și *in vivo*. În IMA indus ISO, PC. Cr a redus pozitiv markerii cardiaci cu scăderea edemului și a necrozei în timpul examenului hemodinamic și histopatologic. În mod similar, în LVH indusă ISO, Pc. Cr a crescut pozitiv enzimele vasodilatatoare puternice și a redus vasoconstrictoarele împreună cu scăderea dimensiunii celulelor cardiace și lipsa celulelor inflamatorii, așa cum se arată în examenul hemodinamic și histopatologic. Screeningul HPLC pentru PC. Cr a confirmat prezența catechinei, acidului P-cumeric, acidului vanilic și quercetinei, care au un rol vital în bolile cardiovasculare, în special IMA induse de hipertensiune arterială și LVH. Studiile *in vivo* și *in vitro* cu *Populus ciliata* au arătat potențial terapeutic împotriva bolilor cardiovasculare. În viitor, *Populus ciliata* Wall ex. Royle poate fi utilizat ca antihipertensiv, cardioprotector și vasorelaxant după separarea constituenților activi.

Dose-dependent Spasmolytic, Bronchodilator, and Hypotensive Activities of *Panicum miliaceum* L.

Dose-Response:
An International Journal
January-March 2022:1-12
© The Author(s) 2022
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/15593258221079592
journals.sagepub.com/home/dos



Fatima Saqib^{1,*} , Arwa Abdulkreem AL-Huqail^{2,*} , Memona Asma¹, Liana Chicea³, Mircea Hoge⁴, Marius Irimie⁴, and Claudia Gavris⁴

Saqib F, Al-Huqail AA, Asma M, Chicea L, Hoge M, Irimie M, Gavris C. Dose-dependent Spasmolytic, Bronchodilator, and Hypotensive Activities of *Panicum miliaceum* L. *Dose Response*. 2022 Mar 27;20(1):15593258221079592. DOI: [10.1177/15593258221079592](https://doi.org/10.1177/15593258221079592)

Panicum miliaceum L. este o plantă eficientă din punct de vedere medicinal folosită în sistemul indigen de medicină pentru o varietate de afecțiuni. Plantele *Panicum* sunt folosite în mod tradițional pentru a trata diareea, dizenteria, dispepsia, ulcerul și constipația. Decoctul *Panicum* este utilizat în tuse, infecții ale gâtului, infecții ale tractului respirator și boli cardiovasculare (HTA) (Sivasankari, et al., 2014; Zhang, et al., 2014). Meiul Proso este bogat în substanțe fitochimice precum acidul fitic, despre care se crede că scade colesterolul și fitat, care este asociat cu reducerea riscului de cancer, împreună cu acizii fenolici și acizii benzoici. De asemenea, conține acid clorogenic, acid siringic, acid cafeic, acid R-cumaric, acid ferulic, acid galic, acizi hidroxicinamici, carotenoizi, luteină, acizi grași (oleic și linolenic), amidon, proteine și mioinozitol acid hexa-fosforic ((Saqib & Al-Huqail, et al., 2022).

Cu toate acestea, nu există un studiu cuprinzător care să explice eficacitatea acestuia în afecțiunile tractului gastrointestinal, respirator și cardiovascular. Acest studiu a fost conceput pentru a valida baza farmacologică pentru utilizarea folclorică a *Panicum miliaceum* L. în diaree, astm și HTA.

Extractul de *Panicum miliaceum* a fost analizat pentru a detecta prezența compușilor bioactivi prin HPLC. Jejunul, traheea și aorta iepurelui izolat au fost utilizate pentru experimente *in vitro* folosind ansamblu de baie de țesut cuplat cu sistemul de achiziție de date Power Lab pentru a explora efectele lor relative. Au fost efectuate experimente *in vivo* pentru activitate anti-diareică. Analiza HPLC a relevat prezența acidului galic, hidroxitoluen butilat, catechinei și quercetinei (tabel XX).

Tabelul XX - Comparația standardului și a *Panicum miliaceum* L.

| Standards | Retention Time (minutes) | Compounds detected | Retention Time (minutes) |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Gallic acid | 2.806 | Gallic acid | 2.700 |
| Catechin | 3.387 | Catechin | 3.405 |
| Butylated hydroxytoluene | 7.041 | Butylated hydroxytoluene | 6.967 |
| Quercetin | 24.894 | Quercetin | 24.704 |

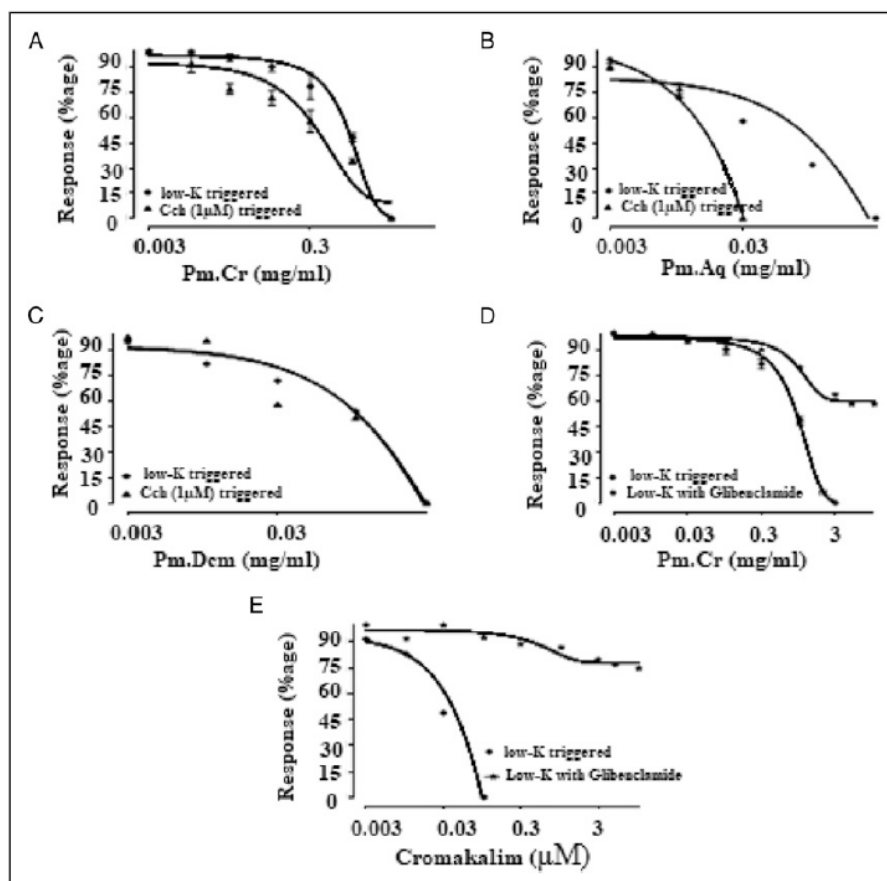


Figura 6 - Efectul relaxant dependent de concentrație al răspunsului *Panicum miliaceum* (A) Pm.Cr (B) Pm.Aq (C) Efectul Pm.Dcm asupra contracțiilor declanșate de K^+ și CCh și (D) Pm.Cr (E) efectul cromakalim asupra contracțiilor scăzute K^+ a declanșat contracții în prezența și absența glibenclamidei pe țesutul traheal.

Cromakalima (un deschizător de canal K^+ dependent de ATP) a inhibat contracțiile induse de K^+ scăzut. Pentru a confirma mecanismul de activare a canalului K^+ , contracțiile declanșate de K^+ scăzut pretratate cu glibenclamidă au fost testate cu doze de extract care au inhibat efectul său de relaxare având un model similar cu deschiderea confirmată de cromakalim a canalului K^+ -ATP (fig. 6). Pentru a verifica efectul bronhodilatator, a fost aplicat Pm.Cr pe contracțiile declanșate de K^+ și CCh scăzut. Pm.Cr a început o reducere a contracțiilor declanșate de K^+ scăzut și CCh, fiind mai puternic împotriva K^+ scăzut. Rezultatele au sugerat că activitatea bronhodilatatorului se datorează mecanismului de

deschidere a canalului K⁺. În plus, flavonoidele au efecte bronhodilatatoare puternice, iar prezența flavonoidelor este confirmată de screeningul fitochimic și HPLC preliminar (Saqib & Al-Huqail, et al., 2022).

Medicamentele cu efect de deschidere a canalelor de potasiu au o utilizare terapeutică pe scară largă în HTA. Pm.Cr a fost investigat în continuare pentru posibilele efecte asupra sistemelor cardiovasculare. Pm.Cr a fost aplicat pe K⁺ scăzut, iar contracțiile declanșate de fenilefrină în aorta izolată. Pm.Cr a dus la relaxarea K⁺ scăzut și a contracțiilor declanșate de fenilefrină. Relaxarea contracțiilor scăzute de K⁺ a arătat o inhibiție importantă în țesuturile pretratate cu glibenclamidă, ceea ce confirmă influența canalelor K⁺-ATP ca mod de vasodilatație care este utilizat pentru tratamentul HTA. Catechina este folosită în tratamentul HTA, în timp ce acidul galic acționează ca un cardioprotector în problemele cardiovasculare (Ghayur, et al., 2007; Nayeem, et al., 2016).

Pm.Cr a prezentat efect antidiareic precum cromakalim, care are activitate spasmolitică și antidiareică. Proprietățile antidiareice detectate ale extractului de mei se pot datora implicării canalelor de potasiu care au scăzut prin pretratament cu glibenclamidă (un blocant al canalelor K⁺ dependent de ATP). Activitatea antidiareică observată se poate datora prezenței flavonoidelor (catechină și quercetină), taninurilor și terpenoidelor prezente în extract (Kim, et al., 2018).

Concluzie

Studiile *in vitro* și *in vivo* ale *Panicum miliaceum* L. au evidențiat activități antispastice, bronhodilatatoare, vasorelaxante și antidiareice. Activitățile puternice antispastice, antidiareice, bronhodilatatoare și vasorelaxante sunt probabil mediate din cauza deschiderii activării canalului K⁺ dependent de ATP.

Original Article

Metabolomics based mechanistic insights to vasorelaxant and cardioprotective effect of ethanolic extract of *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai. seeds in isoproterenol induced myocardial infraction

Fatima Saqib^a, Muqet Wahid^a, Arwa Abdulkreem AL-Huqail^{b,*}, Hanadi Talal Ahmedah^c, Nicusor Bigiu^{d,*}, Marius Irimie^d, Marius Moga^d, Romina Alina Marc (Vlaic)^{e,*}, Oana Lelia Pop^f, Liana Maria Chicea^g

Saqib F, Wahid M, Al-Huqail AA, Ahmedah HT, Bigiu N, **Irimie M**, Moga M, Marc Vlaic RA, Pop OL, Chicea LM. Metabolomics based mechanistic insights to vasorelaxant and cardioprotective effect of ethanolic extract of *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai. seeds in isoproterenol induced myocardial infraction. *Phytomedicine*. 2022 Jun;100:154069. DOI: [10.1016/j.phymed.2022.154069](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154069)

Semințele de *Citrullus lanatus* (pepene verde) (Thunb.) Matsum. & Nakai. au fost folosite de mult timp pentru a suplimenta și îmbunătăți sănătatea și pentru a trata bolile cardiovasculare. Cu toate acestea, efectele sale pe bolile cardiovasculare sunt încă necunoscute. Sunt necesare mai multe cercetări pentru a înțelege pe deplin impactul semințelor de *C. lanatus* asupra vasorelaxării și infarctului miocardic.

Semințele de *C. lanatus* conțin 32 - 40% ulei cu o proporție mai mare de acizi grași polinesaturați. Semințele de *C. lanatus* sunt bogate în acid linoleic, aproximativ 54 - 68,6%. Semințele de *C. lanatus* mai conține acid oleic (13 - 16%), acid stearic (5 - 7%), acid palmitic (9 - 12%), și în proporții mai mici de acid miristic (0,04%), acid palmitoleic (0,07%), acid margaric (0,1%), acid linolenic (0,3%) și acid arahidic (0,29%) (Raihana, et al, 2015; Saqib & Wahid, et al., 2022).

În ciuda utilizărilor tradiționale ale semințelor de *Citrullus lanatus* (Thunb.) în afecțiunile cardiovasculare, niciun studiu anterior nu a raționalizat utilizarea acestui medicament naturist.

Prin urmare, a fost utilizată o tehnică integrată de profilare metabolomică pentru a investiga posibilele căi de acțiune ale *C. lanatus* în infarctul miocardic indus de izoproterenol (ISO). Izoproterenolul provoacă hipertrofie cardiacă pe termen lung, determinând pierderea compensatorie a cardiomiocitelor, ducând în cele din urmă la insuficiență cardiacă.

Au fost utilizate modelele *in vitro* de vasoconstricție, atrium și modele *in vivo* de măsurare invazivă a tensiunii arteriale și hipertrofie cardiacă indusă de izoproterenol (ISO) la șobolani pentru a

înțelege mecanicismul de bază prin analiza metabolomică dinamică bazată pe LC-MS/MS a probelor de ser și țesut miocardic pentru a investiga efectul extractului etanolic de *C. lanatus* (Cl.EtOH).

Rezultate

Compușii bioactivi majori identificați au fost β -sitosterol, cumarină, acid galic, catecol, catechina, kaempferol-3-oglucohamnozidă sau kaempferol-7-o-neohesperidoside, vitexină, L-citrulină, acid protocatecuic, acid elagic, epigallocatechin, vanilină, clorogenic. acid, quercetină și kaempferol, care pot fi responsabili în mod colectiv pentru activitatea biologică (tabelul XXI).

Tabelul XXI - Compușii bioactivi din Cl.EtOH corespunzători fragmentelor cromatografice LC ESI-MS/MS

| Sr. No | Rt (min) | Molecular Weight | Observed MS (m/z) | Calculated MS (m/z) | Error (ppm) | Precursor type | ESI-IT MS/MS (Ions) | Empirical formula | Proposed compound | Class |
|--------|----------|------------------|-------------------|---------------------|-------------|----------------|--|--|--|---------------------------------|
| 1 | 0.83 | 414.7 | 413.3785 | 413.3781 | -0.97 | [M-H]- | 412.08, 391.33, 365.33, 352.33, 311.25, 297, 285.08, 255.08, 171 | C ₂₉ H ₅₀ O | β -sitosterol | Phytosterols |
| 2 | 0.97 | 146.14 | 147.0441 | 147.0446 | 3.40 | [M+H]+ | 147,103, 91, 77 | C ₉ H ₆ O ₂ | Coumarin | Coumarins |
| 3 | 2.1 | 170.12 | 169.0143 | 169.0147 | 2.37 | [M-H]- | 169, 125, 81, 79 | C ₇ H ₆ O ₅ | Gallic acid | Hydroxybenzoic acid derivatives |
| 4 | 2.67 | 110.11 | 109.0295 | 109.0291 | -3.67 | [M-H]- | 109, 108, 81 | C ₆ H ₆ O ₂ | Catechol | Phenols/ Benzenediols |
| 5 | 3.12 | 290.27 | 291.0863 | 291.0871 | 2.75 | [M+H]+ | 291, 165, 139,123 | C ₁₅ H ₁₄ O ₆ | Catechin | Flavonoid/ Catechins |
| 6 | 4.3 | 594.5 | 593.1512 | 593.1522 | 1.69 | [M-H]- | 593, 327, 285 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅ | Kaempferol-3-O-glucorhamnoside / Kaempferol-7-O-neohesperidoside | Flavonoid glycosides |
| 7 | 5.3 | 432.4 | 431.0985 | 431.0971 | -3.25 | [M-H]- | 431, 341, 311, 283, 117 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀ | vitexin | flavone glucoside |
| 8 | 5.4 | 175.2 | 176.1161 | 176.1163 | 1.14 | [M+H]+ | 176, 159, 113, 88, 70 | C ₆ H ₁₃ N ₃ O ₃ | L- Citrulline | non-essential amino acid |
| 9 | 5.7 | 154.12 | 153.0183 | 153.0179 | -2.61 | [M-H]- | 153, 109, 91, 80, 65 | C ₇ H ₆ O ₄ | Protocatechuic acid | Hydroxybenzoic acid derivatives |
| 10 | 8.8 | 302.19 | 300.9993 | 300.9989 | -1.33 | [M-H]- | 300.08, 283, 257.18,201, 207, 172 | C ₁₄ H ₆ O ₅ | Ellagic acid | Tannins |
| 11 | 8.9 | 306.27 | 305.0367 | 305.0377 | 3.28 | [M-H]- | 305, 169, 125 | C ₁₅ H ₁₄ O ₇ | Epigallocatechin | catechin gallates |
| 12 | 9.5 | 152.15 | 151.0411 | 151.0417 | 3.97 | [M-H]- | 151, 136, 123, 108, 95 | C ₉ H ₆ O ₃ | vanillin | Phenols/ Methoxyphenols |
| 13 | 11.1 | 354.31 | 353.0883 | 353.0886 | 0.85 | [M-H]- | 353, 191, 173 | C ₁₆ H ₁₈ O ₉ | chlorogenic acid | Alcohols and polyols |
| 14 | 12.2 | 302.23 | 303.0493 | 303.0483 | -3.30 | [M-H]+ | 303, 285, 274, 257, 229, 219, 201, 185, 173, 165, 153, 137 | C ₁₅ H ₁₀ O ₇ | Quercetin | Flavonoid glycosides |
| 15 | 16.7 | 286.23 | 287.0615 | 287.0613 | -0.70 | [M-H]+ | 287, 269, 263, 259, 241, 213, 201, 185,171, 153, 121 | C ₁₅ H ₁₀ O ₆ | Kaempferol | Flavanols |

Cl.EtOH a fost testat pentru o posibilă activitate vasorelaxantă asupra endoteliului intact și a preparatelor denudate de aortă de șobolan. La ambele preparate, Cl.EtOH a avut un efect vasorelaxant. La fel ca verapamilul, Cl.EtOH a afișat un răspuns relaxant la PE (1 μ M), iar K⁺ (80 mM) a produs contracții. Cl.EtOH din studiul nostru a suprimat contracțiile spastice K⁺ (80 mM) și K⁺ (25 mM) la 5 mg/ml și, respectiv, 1 mg/ml, indiferent dacă intervine prin blocarea canalelor de calciu sau prin deschiderea canalului de potasiu. K⁺ (80mM) a declanșat depolarizarea odată cu afluxul de curent de

calciu în celulă, crescând ionii de calciu citosolici, iar această acțiune intensă a membranei depolarizate poate să fi dus la un răspuns contractil persistent de lungă durată în preparatele aortice (fig. 7). Mușchiul neted se va relaxa după ce a avut loc repolarizarea prin blocarea afluxului de curent de calciu, Cl.EtOH a relaxat contracția indusă de K⁺ (80 mM) și a blocat depolarizarea evocată și potențialul membranelor repolarizat (Saqib & Wahid, et al., 2022).

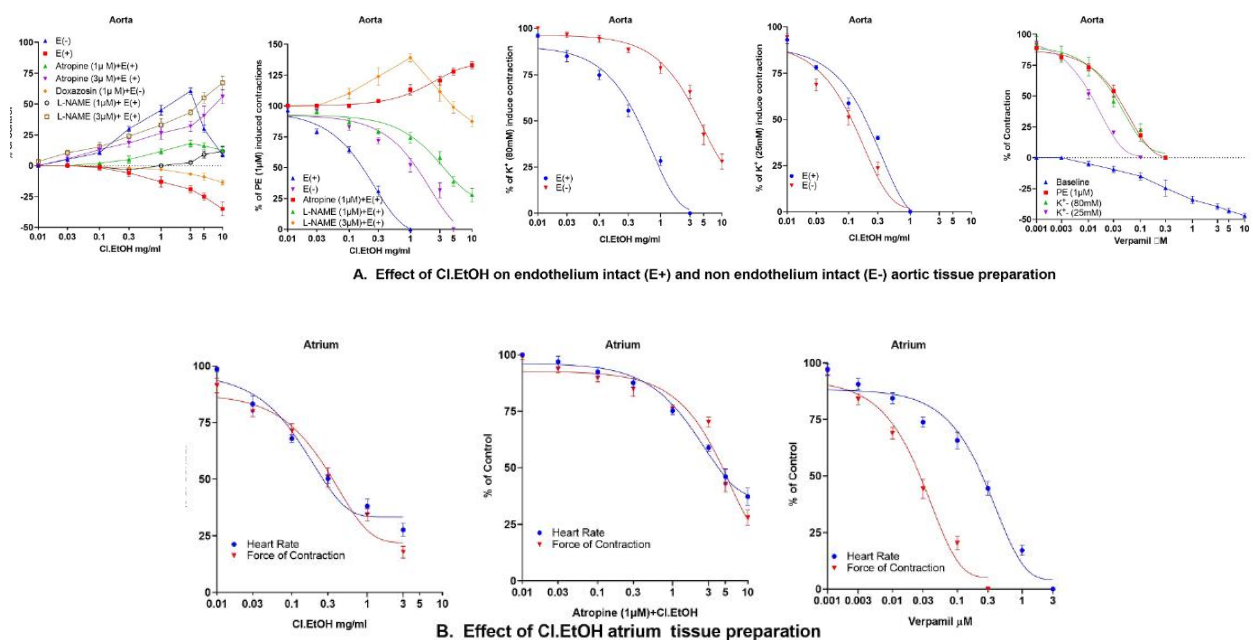


Figura 7 – (A)Efectele vasorelaxante ale Cl.EtOH și verapamilul asupra endoteliului intact (E+) și (B)preparatului de endoteliu aortic (E-) denudat în fenilefrină (1 μM), K⁺ (80 mM) și K⁺ (25 mM) contracții spastice în absența și prezența atropinei și a L-NAME

Următoarele serii de evenimente erau de așteptat să fie inhibitate: 1) scăderea concentrației ionilor de calciu citosolici, 2) ionii de calciu citosolici insuficienti pentru a interacționa cu proteina fosfokinaza C reglatoare, complexul calciu-calmodulină nu s-a putut forma., 3); Activarea lanțului ușor al kinazei miozinei (MLCK) și fosforilarea MLC-urilor nu a avut loc și 4) Interacțiunea actinei și MLC-urile fosforilate nu a avut loc; ca rezultat, răspunsul contractil al țesutului nu a fost atins.

Cl.EtOH a relaxat, de asemenea, contracția spastică indusă de fenilefrină pe ambele preparate aortice ale endoteliului (intact și denudat). Cu toate acestea, în prezența atropinei și a L-NAME, nu a reușit să relaxeze contracțiile spastice induse de fenilefrină pe porțiunea aortică intactă a endoteliului.

Dezvoltarea HTA asociate stresului oxidativ este legată de scăderea biodisponibilității oxidului nitric (NO). Stresul oxidativ este un factor pro-hipertensiv care agravează disfuncția endotelială și crește vasoconstricția, toate acestea ducând la creșterea rezistenței vasculare sistemice și la creșterea tensiunii arteriale. Am descoperit că în prezența L-NAME, vasorelaxarea Cl.EtOH dependentă de endoteliu în preparatul aortic a fost atenuată, indicând disfuncție endotelială. Tratamentul cu Cl.EtOH, în mod interesant, a redus disfuncția endotelială în timp ce a scăzut și stresul oxidativ, probabil datorită acțiunii sale antioxidante (Saqib & Wahid, et al., 2022).

Cl.EtOH a prezentat efect inotrop și cronotrop negativ pe atriul de șobolan, forța de contracție diminuată și scăderea parțială a ritmului cardiac. Contractia mușchiului inimii este introdusă prin excitația electrică a miocitelor cardiace (cuplaj excitație-contracție). Explicația plauzibilă a constatărilor observate este că Cl.EtOH poate fi prezentat prin activitatea colinergică sau blocarea adrenoceptorilor și a canalelor ionice de calciu de tip L (Saqib & Wahid, et al., 2022).

Descoperirile experimentale ale Cl.EtOH asupra preparatelor aortice și a atriului l-au făcut un bun candidat pentru posibile efecte hipotensive asupra tensiunii arteriale la șobolanii anesteziați. Cl.EtOH scade tensiunea arterială sistolică, tensiunea arterială diastolică la șobolanii anesteziați. Acești parametri au fost reduși prin pretratamentul cu atropină (1mg/kg), susținând speculația cu privire la implicarea receptorilor M2 localizați în țesuturile miocardice și prin vasodilatație generalizată datorată receptorilor M3 neinvertați pe preparatele aortice - activitatea de blocare a canalelor de calciu a Cl.EtOH de asemenea, nu poate fi exclus că poate juca un rol vital în activitatea antihipertensivă a extractului (Saqib & Wahid, et al., 2022).

Administrarea izoproterenolului este utilizată pe scară largă în mediul academic pentru a induce infarctele miocardice la animale pentru experimente. În acest studiu, efectul cardioprotector al Cl.EtOH a fost studiat în ISO pentru a induce infarctele miocardice cronice. Cl.EtOH a restabilit anomaliile ISO și a protejat țesutul miocard. Administrarea ISO a determinat o creștere semnificativă a indicilor biometrici; greutatea inimii, greutatea LHV și alți parametri ai infarctului de miocard, de asemenea, a fost observată creșterea nivelurilor parametrilor biochimici serici, cum ar fi CK, CK-MB, LDH, cTnT, cTnI, BNP, ANP, ALT, AST, ACE și profilul lipidic. Pretratamentul cu Cl.EtOH și administrarea concomitentă au îmbunătățit tendințele acestor indici în mod semnificativ ($p < 0,05$) în comparație cu verapamil și

carvedilol. Expresia genică a țesuturilor miocardice a arătat că Cl.EtOH ar putea atenua efectul de toxicitate indus de ISO. S-a observat că Cl.EtOH crește rolul protector prin îmbunătățirea expresiei ARNm eNOS3, care stimulează vasodilatația prin mecanismul EDRF (Saqib & Wahid, et al., 2022).

Analiza metabolomică a probelor de ser și cord a fost efectuată pentru a determina modificările metaboliților endogeni între grupuri. S-a constatat că Cl.EtOH a inversat anomaliile induse de ISO în biomarkerii potențiali ai metaboliților și modificările acestora asociate cu efectul hipotensiv. Biomarkerii potențiali au făcut parte din următoarele căi biologice: metabolismul lipidic, stresul oxidativ, nicotinic și nicotinamidă, metabolismul energetic și metabolismul piruvatului. Căile biologice menționate mai sus sunt asociate cu disfuncția endotelială sau cu diferite etiologii ale HTA (Jiang, et al., 2017).

Concluzii

În acest studiu, a fost utilizată o combinație de experimente *in vitro* și *in vivo* pentru a investiga efectul cardioprotector potențial al Cl.EtOH. Rezultatele sugerează că mecanismul antihipertensiv al Cl.EtOH poate implica reglarea factorului de relaxare derivat din endoteliu (EDRF) pe bază de oxid nitric (NO) și este asociat cu funcția endotelială vasculară. Mai mult, profilarea metaboliților din ser și țesuturi cardiace sugerează că Cl.EtOH a inversat infarctul miocardic indus de ISO prin metabolismul aminoacizilor, metabolismul energetic și stresul oxidativ asociat cu infarctul miocardic.

În rezumat, profilarea metabolomică a demonstrat o perspectivă a Cl.EtOH în activitățile antihipertensive și cardioprotectoare. Această bioinvestigație a arătat că Cl.EtOH prezintă activități antihipertensive și cardioprotectoare semnificative, ceea ce justifică utilizarea acestei plante în medicina tradițională.

Original article

Chemoprotective effect of vitexin against cisplatin-induced biochemical, spermatological, steroidogenic, hormonal, apoptotic and histopathological damages in the testes of Sprague-Dawley rats

Muhammad Umar Ijaz^a, Arfa Tahir^a, Hussain Ahmed^b, Asma Ashraf^{c,*}, Hanadi Talal Ahmedah^d, Liviu Muntean^{e,*}, Marius Moga^e, Marius Irimie^e

Ijaz MU, Tahir A, Ahmed H, Ashraf A, Ahmedah HT, Muntean L, Moga M, **Irimie M**. Chemoprotective effect of vitexin against cisplatin-induced biochemical, spermatological, steroidogenic, hormonal, apoptotic and histopathological damages in the testes of Sprague-Dawley rats. *Saudi Pharm J*. 2022 May;30(5):519-526. DOI: [10.1016/j.jsps.2022.03.001](https://doi.org/10.1016/j.jsps.2022.03.001)

Cisplatina (CP) este unul dintre cele mai utilizate medicamente antineoplazice, care are potențialul de a trata o varietate largă de afecțiuni maligne. Cu toate acestea, prezintă și numeroase efecte secundare. Disfuncția reproductivă masculină este unul dintre cele mai frecvente adverse efecte ale cisplatinei. Vitexin este un flavonoid natural, care prezintă proprietăți antioxidante remarcabile. Vitexina este un grup polifenolic de substanțe fitochimice, prezente în diverse plante precum păducelul și schinduful. Vitexina prezintă proeminente proprietăți antioxidante, antidiabetice, antiinflamatorii, neuroprotectoare și cardioprotectoare. Vitexina se poate dovedi a fi un medicament terapeutic eficient împotriva afecțiunilor multiple datorită diferitelor sale activități farmacologice (He, et al., 2016).

Studiul prezent a fost conceput pentru a evalua efectul de ameliorare al vitexinei asupra toxicității testiculare și spermatologice induse de cisplatină la șobolani.

Material și metodă

48 de șobolani (greutate 200 ± 10 g) au fost împărțiți în mod egal în 4 grupuri (n=12 șobolani/grup). Următoarele tratamente au fost furnizate șobolanilor pe baza grupului atribuit: 1) Grupului de control i s-a injectat 0,9% soluție salină intraperitoneal în ziua 1 și prin gavaj oral până la 14 zile; 2) grupului CP cu cisplatină i s-a injectat 7 mg/kgc de cisplatină intraperitoneal în ziua 1, în timp ce soluția salină a fost furnizată timp de 14 zile prin gavaj oral; 3) grupului CP + VIT i s-a injectat o doză de cisplatină de 7 mg/kgc în ziua 1) și 30 mg/kgc de vitexină a fost administrată prin gavaj oral timp de 14 zile și 4) grupului vitexină a fost de asemenea injectat intraperitoneal ser fiziologic în ziua 1, în timp ce 30 mg/kgc de vitexină a fost administrată oral timp de 14 zile. La finalul studiului s-au prelevat probe

de sânge din care s-au dozat: activitatea catalazei (CAT), activitatea superoxid dismutazei (SOD), activitatea glutathione peroxidazei (GPx), nivelul malondialdehidei (MDA), nivelul speciilor reactive de oxigen (ROS), nivelul LH, FSH și testosteronului.

Pentru a determina expresiile genice ale 3 β -hidroxisteroid dehidrogenazei (3 β -HSD), 17 β -hidroxisteroid dehidrogenazei (17 β -HSD) și proteinei reglatoare acute steroidogene (StAR), precum și expresiile markerului apoptotic (Bax, Bcl-2 și Caspaza-3) s-a efectuat qRT-PCR.

Au fost prelevați spermatozoizi din porțiunea caudală a epididimului pentru estimarea motilității. Viabilitatea spermei a fost evaluată prin colorare cu eozină/nigrosină, urmată de o evaluare microscopică. Hemocitometrul a fost folosit pentru numărarea spermatozoidilor din epididim. În plus, a fost determinat procentul de anomalii morfologice ale capului, cozii și mijlocului spermatozoidilor. Au fost efectuate examinări histopatologice din probe tisulare de țesut testicular (Ijaz, et al., 2022).

Rezultate

Cisplatina a scăzut semnificativ ($P < 0,001$) activitatea CAT, SOD, GPx și GSR, în timp ce a crescut nivelul de MDA și ROS în grupul CP comparativ cu grupul de control (tabelul XXII). Cu toate acestea, suplimentarea cu vitexină a CP a crescut remarcabil activitățile CAT ($P < 0,01$), GPx ($P < 0,05$), GSR ($P < 0,01$) și SOD ($P < 0,001$), în timp ce a scăzut substanțial ($P < 0,001$) nivelurile ROS și MDA în comparație cu grupul administrat de CP. Cu toate acestea, nu a fost observată nicio diferență semnificativă între șobolanii din grupul VIT și grupul de control.

Tabelul XXII - Efectul cisplatinei și vitexinei asupra indicilor biochimici la șobolani.

| Groups | Control | CP | CP + VIT | VIT |
|---------------------------------------|-------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| CAT (U/mg protein) | 7.51 ± 0.21 | 4.96 ± 0.10 ^{###} | 6.72 ± 0.17 ^{**} | 7.57 ± 0.30 ^{***} |
| SOD (U/mg protein) | 5.42 ± 0.14 | 2.51 ± 0.12 ^{###} | 4.64 ± 0.16 ^{***} | 5.51 ± 0.24 ^{***} |
| GPx (U/mg protein) | 11.7 ± 0.05 | 7.07 ± 0.10 ^{###} | 9.74 ± 0.17 [*] | 11.8 ± 0.31 ^{***} |
| GSR (nM NADPH oxidized/min/mg tissue) | 3.73 ± 0.13 | 1.51 ± 0.16 ^{###} | 2.92 ± 0.09 ^{**} | 3.79 ± 0.21 ^{***} |
| MDA (nmol/g tissue) | 0.71 ± 0.07 | 1.86 ± 0.07 ^{###} | 1.03 ± 0.04 ^{***} | 0.65 ± 0.12 ^{***} |
| ROS (U/mg tissue) | 1.19 ± 0.11 | 7.17 ± 0.27 ^{###} | 2.17 ± 0.11 ^{***} | 1.03 ± 0.13 ^{***} |

Results are represented in Mean ± SEM (n = 12 rats/group). ^{###} p < 0.001 compared with control group. ^{**} p < 0.01 and ^{***} p < 0.001 with respect to CP-treated group.

CP a redus semnificativ motilitatea spermatozoidilor, viabilitatea, numărul de spermatozoizi epididimali și numărul de spermatozoizi HOS cu coadă spiralată, în timp ce anomaliile morfologice ale spermatozoidilor (capul, mijlocul și coada spermei) au fost crescute la grupul intoxicat cu CP comparativ cu grupul de control (tabel XXIII). Dimpotrivă, vitexina a inversat în mod semnificativ ($P < 0,001$) toți

acești indici ai spermatozoizilor la o stare normală în grupul tratat (CP + VIT) față de grupul CP. Mai mult, nu a fost observată nicio diferență semnificativă între grupul VIT și grupul de control.

Tabelul XXIII - Efectul cisplatinei și vitexinei asupra indicilor spermatozoizilor la șobolani.

| Groups | Control | CP | CP + VIT | VIT |
|--------------------------------------|-------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Sperm count (millions/mL) | 25.0 ± 0.93 | 14.4 ± 0.35 ^{###} | 20.9 ± 0.42 ^{***} | 26.1 ± 0.66 ^{***} |
| Sperm motility (%) | 61.1 ± 1.23 | 30.5 ± 1.01 ^{###} | 53.3 ± 1.10 ^{***} | 62.2 ± 2.28 ^{***} |
| Hypo-osmotic swelled sperm count (%) | 55.6 ± 1.11 | 33.7 ± 1.31 ^{###} | 49.4 ± 1.49 ^{***} | 59.9 ± 0.93 ^{***} |
| Dead sperms (%) | 15.7 ± 0.80 | 64.8 ± 1.80 ^{###} | 25.4 ± 1.12 ^{***} | 16.2 ± 1.34 ^{***} |
| Abnormal sperm head (%) | 3.54 ± 0.17 | 8.75 ± 0.20 ^{###} | 4.79 ± 0.09 ^{***} | 3.53 ± 0.17 ^{***} |
| Abnormal sperm mid-piece (%) | 0.74 ± 0.04 | 4.48 ± 0.20 ^{###} | 1.04 ± 0.07 ^{***} | 0.73 ± 0.04 ^{***} |
| Abnormal sperm tail (%) | 3.07 ± 0.10 | 8.96 ± 0.11 ^{###} | 4.26 ± 0.11 ^{***} | 3.17 ± 0.25 ^{***} |

Results are represented in Mean ± SEM (n = 12 rats/group). ### p < 0.001 compared to control group. ** p < 0.01 and *** p < 0.001 with respect to CP-treated group.

CP a redus semnificativ (P < 0,001) nivelul de LH, FSH și testosteron plasmatic la șobolani intoxicați cu CP față de grupul de control (tabelul XXIV). Cu toate acestea, vitexina a adus o restabilire semnificativă (P < 0,001) a nivelului tuturor celor trei hormoni din grupul tratat cu CP + VIT față de grupul cu CP. În plus, nu a fost observată nicio diferență semnificativă între grupul VIT și grupul de control.

Tabelul XXIV - Efectul cisplatinei și vitexinei asupra nivelurilor hormonale la șobolani

| Groups | Control | CP | CP + VIT | VIT |
|-----------------------------|-------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| LH (ng/mL) | 2.37 ± 0.08 | 1.04 ± 0.13 ^{###} | 2.06 ± 0.05 ^{***} | 2.39 ± 0.09 ^{***} |
| FSH (ng/mL) | 3.49 ± 0.08 | 1.64 ± 0.06 ^{###} | 2.85 ± 0.11 ^{***} | 3.56 ± 0.15 ^{***} |
| Plasma testosterone (ng/mL) | 4.33 ± 0.16 | 2.06 ± 0.15 ^{###} | 4.09 ± 0.06 ^{***} | 4.42 ± 0.15 ^{***} |

Results are represented in Mean ± SEM (n = 12 rats/group). ### p < 0.001 compared with control group. ** p < 0.01 and *** p < 0.001 with respect to CP-treated group.

CP a reglat semnificativ (P < 0,001) expresiile genice ale Bax și Caspaze-3, în timp ce expresia Bcl-2 a fost reglată în jos în grupul CP în comparație cu grupul de control. Dimpotrivă, vitexina a inversat în mod semnificativ (P < 0,001) expresia acestor proteine apoptotice în grupul CP + VIT comparativ cu grupul administrat CP. Cu toate acestea, nu a fost observată nicio diferență semnificativă în grupul tratat cu VIT față de grupul de control.

Administrarea CP la șobolani a scăzut semnificativ (P < 0,001) diametrul și înălțimea tubului seminifer, împreună cu înălțimea tunicii albuginea. În plus, a mărit diametrul luminal al tubilor. CP a minimizat, de asemenea, numărul de spermatogonii, spermatocite primare și secundare, împreună cu spermatozoizii din grupul CP înrudit cu grupul de control. Pe de altă parte, suplimentarea cu vitexină, a restabilit semnificativ (P < 0,001) toate aceste leziuni structurale, precum și numărul de celule germinale în testiculele grupului CP + VIT comparativ cu grupul CP. În plus, nu a fost observată nicio diferență semnificativă între grupul tratat cu VIT și grupul de control (tabel XXV).

Tabelul XXV - Efectul cisplatinei și vitexinei asupra histomorfometriei testiculelor de șobolan

| Groups | Control | CP | CP + VIT | VIT |
|--|------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Tunica albuginea height (μm) | 30.05 \pm 1.82 | 13.61 \pm 1.37 ^{###} | 24.54 \pm 0.63 ^{**} | 30.6 \pm 1.37 ^{***} |
| Diameter of tubules (μm) | 229.5 \pm 9.09 | 132.3 \pm 5.54 ^{###} | 208.66 \pm 5.45 ^{***} | 237.5 \pm 6.46 ^{***} |
| epithelial height of tubules (μm) | 87.59 \pm 2.59 | 52.15 \pm 2.07 ^{###} | 73.07 \pm 2.14 ^{**} | 86.66 \pm 2.88 ^{***} |
| Tubular lumen (μm) | 58.22 \pm 1.66 | 102.6 \pm 1.87 ^{###} | 73.29 \pm 1.27 ^{***} | 57.41 \pm 5.44 ^{***} |
| Spermatogonia (n) | 46.83 \pm 0.89 | 23.90 \pm 0.90 ^{###} | 38.93 \pm 0.34 ^{***} | 46.76 \pm 0.70 ^{***} |
| Primary spermatocyte (n) | 33.64 \pm 1.18 | 21.95 \pm 1.16 ^{###} | 29.88 \pm 0.28 ^{**} | 33.94 \pm 1.77 ^{***} |
| Secondary spermatocyte (n) | 28.61 \pm 0.73 | 15.72 \pm 0.55 ^{###} | 24.43 \pm 0.28 ^{**} | 29.32 \pm 0.96 ^{***} |
| Spermatids (n) | 54.41 \pm 0.61 | 26.30 \pm 0.68 ^{###} | 44.94 \pm 1.28 ^{**} | 55.11 \pm 1.68 ^{***} |






Results are represented in Mean \pm SEM (n = 12 rats/group). ### p < 0.001 with respect to control group. ** p < 0.01 and *** p < 0.001 with respect to CP-treated group.

Concluzii

Expunerea la CP a determinat deteriorarea profilurilor spermatogene, hormonale și structurale la șobolanii masculi albinoși. În plus, nivelul enzimelor antioxidante, precum și expresia proteinelor apoptotice și a enzimelor steroidogene, au prezentat o stare de dezechilibru, dăunând astfel performanței întregului sistem reproducător masculin. Cu toate acestea, vitexina a restabilit toate aceste daune în parametrii menționați mai sus datorită potențialului său antioxidant și androgen. Studiul actual ar putea fi foarte util în tratarea problemelor de infertilitate la pacienții de sex masculin cu cancer supuși chimioterapiei.

Article

Achyranthes aspera Extracts as Adjuvants for the Redressal of Antibiotic Resistance

Hamna Ahmad¹, Umar Farooq Gohar^{1,*} , Hamid Mukhtar¹ , Muhammad Zia-UI-Haq²,
Romina Alina Marc³ , Marius Irimie^{4,*} , Luigi Geo Marceanu^{4,*}  and Claudia Mihaela Gavris⁴

Ahmad H, Gohar UF, Mukhtar H, Zia-Ui-Haq M, Marc RA, Irimie M, Marceanu LG, Gavris CM. *Achyranthes aspera* Extracts as Adjuvants for the Redressal of Antibiotic Resistance. *Pharmaceutics*. 2022 Oct 18;14(10):2219. DOI: [10.3390/pharmaceutics14102219](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14102219)

Rezistența bacteriană la antibiotice este în creștere, ceea ce duce la o creștere a costurilor de asistență medicală și la rate excesive de morbiditate și mortalitate (Bebell & Muiru, 2014). Utilizarea excesivă și greșită a antibioticelor duc la dezvoltarea rezistenței antimicrobiene, care are ca rezultat creșterea frecvenței multor infecții netratabile (Prescott, 2014). Creșterea rezistenței la antibiotice reprezintă o amenințare serioasă la adresa sănătății publice, fie din cauza infecțiilor intraspitalicești fie comunitare cu VRE (enterococi rezistenți la vancomicină), VISA (Vancomicin-Staphylococcus aureus intermediar), ESBL (Extended-Spectrum beta-lactamaze) și MRSA (Staphylococcus aureus rezistent la metilicilină). Aceste bacterii includ *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis* și *Staphylococcus aureus* (Davies & Davies, 2010).

Compușii care potențează activitatea antibiotică atunci când sunt administrați concomitent cu un antibiotic sunt cunoscuți sub numele de întrerupători de rezistență, chimiosensibilizatori, adjuvanți antibiotici și potențiatori de antibiotice. Acești compuși sunt numiți metaboliți secundari și sunt compuși dinamici din punct de vedere biologic. Unii dintre metaboliții secundari importanți sunt alcaloizii, flavonoizii, fenolicii, taninurile, polifenolii, terpenele, cumarinele, chinonele, lectinele, saponinele, etc (Savoia, 2012).

Compușii derivați din plante prezintă activitate împotriva rezistenței la antibiotice, astfel de chinone (formate din compuși bioactivi din clasa majoră) având capacitatea de a elimina plasmidele care dau rezistența. Extractele de *Piper nigrum*, *Zingiber officinale*, *Cinnamomum verum*, *Nigella sativa* și *Plumbago zeylanica* conțin fenoli (eugenol), saponine, naftochinone, flavonoide, taninuri și alcaloizi care pot fi utilizați ca agenți de întărire a plasmidei (Khder & Muhammed, 2010).

Prezentul studiu a fost conceput pentru a justifica efectul metaboliților secundari prezenți în semințele și frunzele de *Achyranthes aspera* ca blocați de rezistență. Diferite părți din semințele, rădăcinile, frunzele și tulpinile acestei plante sunt utilizate separat pentru diferite boli ca agenți antimicrobieni, anticancerși și antiulceroși. Frunzele și semințele de *Achyranthes aspera* sunt utilizate pentru remedierea rezistenței la antibiotice cauzate de bacterii multirezistente la antibiotice (Shendkar, et al., 2011). În studiul de față, șapte antibiotice diferite au fost utilizate împotriva a cinci tulpini diferite de bacterii, cum ar fi *Staphylococcus aureus* rezistent la meticilină, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* și *Pseudomonas aeruginosa*.

Material și metodă

Screeningul fitochimic a fost efectuat pentru extractele de semințe și frunze de *Achyranthes aspera* pentru confirmarea metaboliților secundari prin utilizarea procedurilor standard. Cinci tulpini bacteriene de *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* și *Pseudomonas aeruginosa*, au fost colectate de la laboratorul de patologie. Colorația Gram a fost efectuată pentru confirmarea tulpinilor bacteriene. Pentru caracteristicile culturii, tulpinile au fost striate pe diferite medii și s-au efectuat teste biochimice. Metoda difuzimetrică cu discuri a fost utilizată pentru a confirma rezistența tulpinilor bacteriene respective

Rezultate

Pentru *Staphylococcus aureus* MRSA, cefoxitina, penicilina și cotrimoxazolul au fost rezistente dintre cele șapte antibiotice. Zona de inhibiție pentru toate aceste trei antibiotice trece de la cea rezistentă la cea sensibilă după combinarea cu extracte de plante (tabelul XXVI).

Tabelul XXVI - Rezultatele testelor de susceptibilitate la antibiotice ale MRSA

| SR# | Antibiotics Used for <i>Staphylococcus aureus</i> | Zones of Inhibition for <i>Staphylococcus aureus</i> (mm) | Zones of Inhibition Sensitive CLSI (mm) | Zones of Inhibition Intermediate CLSI (mm) | Zones of Inhibition Resistant CLSI (mm) |
|-----|---|---|---|--|---|
| 1 | Ciprofloxacin (5 µg) | 21 ± 0.1 | ≥21 | 16–20 | ≤15 |
| 2 | Levofloxacin (5 µg) | 14 ± 0.3 | ≥15 | 13–14 | ≤12 |
| 3 | Amikacin (30 µg) | 17 ± 0.2 | ≥18 | 14–17 | ≤13 |
| 4 | Cefoxitin (30 µg) | 17 ± 0.1 | ≥22 | - | ≤21 |
| 5 | Penicillin (10 µg) | 6 ± 0.5 | ≥15 | 13–14 | ≤12 |
| 6 | Linezolid (10 µg) | 24 ± 0.2 | ≥21 | - | ≤20 |
| 7 | Co-trimoxazole (25 µg) | 6 ± 0.4 | ≥16 | 11–15 | ≤10 |

Intermediate zones of inhibition can fall between intermediate sensitive or intermediate resistant; standard deviation from mean indicated by ± sign; Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI).

Pentru *Enterococcus faecalis*, Ciprofloxacină, Levofloxacină, Penicilina, Amoxicilina, Imipenemul și Vancomicina au fost rezistente după tratamentul cu extracte de plante, iar zonele de inhibare Ciprofloxacină, Levofloxacină, Imipenem și Vancomicina au fost din intervalul rezistent la sensibil. O creștere a dimensiunilor zonelor a fost observată pentru penicilină, dar aceasta a rămas rezistentă, în timp ce nu a fost observată nicio zonă de inhibiție pentru amoxicilină (tabelul XXVII).

Tabelul XXVII - Rezultatele testelor de susceptibilitate la antibiotice ale *Enterococcus faecalis*

| SR# | Antibiotics Used for <i>Enterococcus faecalis</i> | Zones of Inhibition for <i>Enterococcus faecalis</i> (mm) | Zones of Inhibition Sensitive CLSI (mm) | Zones of Inhibition Intermediate CLSI (mm) | Zones of Inhibition Resistant CLSI (mm) |
|-----|---|---|---|--|---|
| 1 | Ciprofloxacin (5 µg) | 13 ± 0.2 | ≥21 | 16–20 | ≤15 |
| 2 | Levofloxacin (5 µg) | 10 ± 0.4 | ≥17 | 14–16 | ≤13 |
| 3 | Penicillin (10 µg) | 8 ± 0.5 | ≥15 | 13–14 | ≤12 |
| 4 | Amoxicillin (10 µg) | 6 ± 0.1 | ≥18 | 14–17 | ≤13 |
| 5 | Linezolid (30µg) | 19 ± 0.3 | ≥23 | 21–22 | ≤20 |
| 6 | Imipenem (10 µg) | 14 ± 0.2 | ≥21 | 19–21 | ≤18 |
| 7 | Vancomycin (30 µg) | 10 ± 0.1 | ≥17 | 15–16 | ≤14 |

Pentru *Acinetobacter baumannii*, Ciprofloxacină, Levofloxacină, Ceftriaxonă, Ceftazidimă și Imipenem au fost rezistente. După combinația acestor antibiotice cu extracte de plante, s-a observat o modificare a dimensiunilor zonei pentru Levofloxacină și Ceftriaxonă, dar nu a fost considerabilă deoarece a rămas în intervalele de rezistență și intermediare. Nu au fost observate zone de inhibiție pentru Ciprofloxacină, Ceftazidimă sau Imipenem (tabelul XXVIII).

Tabelul XXVIII - Rezultatele testelor de susceptibilitate la antibiotice ale *Acinetobacter baumannii*

| SR# | Antibiotics Used for <i>Acinetobacter baumannii</i> | Zones of Inhibition for <i>Acinetobacter baumannii</i> (mm) | Zones of Inhibition Sensitive CLSI (mm) | Zones of Inhibition Intermediate CLSI (mm) | Zones of Inhibition Resistant CLSI (mm) |
|-----|---|---|---|--|---|
| 1 | Ciprofloxacin (5 µg) | 6 ± 0.3 | ≥26 | 22–25 | ≤21 |
| 2 | Levofloxacin (5 µg) | 9 ± 0.1 | ≥21 | 17–20 | ≤16 |
| 3 | Amikacin (30 µg) | 18 ± 0.3 | ≥18 | 14–17 | ≤13 |
| 4 | Ceftriaxonă (30 µg) | 6 ± 0.2 | ≥23 | 20–22 | ≤19 |
| 5 | Ceftazidimă (30µg) | 6 ± 0.4 | ≥21 | 18–20 | ≤17 |
| 6 | Imipenem (10 µg) | 6 ± 0.3 | ≥23 | 20–22 | ≤19 |
| 7 | Co-trimoxazole (25 µg) | 19 ± 0.1 | ≥16 | 11–15 | ≤10 |

Pentru *Klebsiella pneumoniae*, toate antibioticele au fost rezistente. O creștere a dimensiunilor zonelor a fost observată după o combinație cu extracte de plante pentru Ceftazidimă și Imipenem, dar a rămas în categoria rezistenței (tabelul XXIX).

Nu a fost observată nicio zonă de inhibiție pentru *Pseudomonas aeruginosa* înainte sau după utilizarea extractelor de plante împotriva oricărui antibiotic (tabelul XXX și XXXI).

Tabelul XXIX - Rezultatele testelor de susceptibilitate la antibiotice ale *Klebsiella pneumoniae*

| SR# | Antibiotics Used for <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Zones of Inhibition for <i>Klebsiella pneumoniae</i> (mm) | Zones of Inhibition Sensitive CLSI (mm) | Zones of Inhibition Intermediate CLSI (mm) | Zones of Inhibition Resistant CLSI (mm) |
|-----|---|---|---|--|---|
| 1 | Ciprofloxacin (5 µg) | 6 ± 0.4 | ≥26 | 22–25 | ≤21 |
| 2 | Levofloxacin (5 µg) | 6 ± 0.3 | ≥21 | 17–20 | ≤16 |
| 3 | Amikacin (30 µg) | 6 ± 0.2 | ≥18 | 14–17 | ≤13 |
| 4 | Ceftriaxone (30 µg) | 6 ± 0.3 | ≥23 | 20–22 | ≤19 |
| 5 | Ceftazidime (30 µg) | 8 ± 0.1 | ≥21 | 18–20 | ≤17 |
| 6 | Imipenem (10 µg) | 7 ± 0.1 | ≥23 | 20–22 | ≤19 |
| 7 | Co-trimoxazole (25 µg) | 6 ± 0.2 | ≥16 | 11–15 | ≤10 |

Tabelul XXX - Rezultatele testelor de susceptibilitate la antibiotice ale *Pseudomonas aeruginosa*

| SR# | Antibiotics Used for <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> | Zones of Inhibition for <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (mm) | Zones of Inhibition Sensitive CSLI (mm) | Zones of Inhibition Intermediate CSLI (mm) | Zones of Inhibition Resistant CSLI (mm) |
|-----|--|--|---|--|---|
| 1 | Ciprofloxacin (5 µg) | 6 ± 0.4 | ≥26 | 22–25 | ≤21 |
| 2 | Levofloxacin (5 µg) | 6 ± 0.3 | ≥21 | 17–20 | ≤16 |
| 3 | Amikacin (30 µg) | 6 ± 0.2 | ≥18 | 14–17 | ≤13 |
| 4 | Ceftriaxone (30 µg) | 6 ± 0.3 | ≥23 | 20–22 | ≤19 |
| 5 | Ceftazidime (30µg) | 6 ± 0.1 | ≥21 | 18–20 | ≤17 |
| 6 | Imipenem (10 µg) | 6 ± 0.1 | ≥23 | 20–22 | ≤19 |
| 7 | Co-trimoxazole (25 µg) | 6 ± 0.2 | ≥16 | 11–15 | ≤10 |

Tabelul XXXI - Rezultatele testelor de sensibilitate la antibiotice pentru semințe de *Achyranthes aspera* împotriva unor tulpini bacteriene selectate

| <i>Achyranthes aspera</i> Seed Extracts | Zone of Inhibition MRSA (mm) | Zone of Inhibition <i>E. faecalis</i> (mm) | Zone of Inhibition <i>A. baumannii</i> (mm) | Zone of Inhibition <i>K. pneumoniae</i> (mm) | Zone of Inhibition <i>P. aeruginosa</i> (mm) |
|---|------------------------------|--|---|--|--|
| Methanolic extract | 6 ± 0 | 6 ± 0 | 6 ± 0 | 6 ± 0 | 6 ± 0 |
| Petroleum ether extract | 6 ± 0 | 6 ± 0 | 6 ± 0 | 6 ± 0 | 6 ± 0 |
| Chloroform extract | 6 ± 0 | 6 ± 0 | 6 ± 0 | 6 ± 0 | 6 ± 0 |
| Ethyl acetate extract | 6 ± 0 | 6 ± 0 | 6 ± 0 | 6 ± 0 | 6 ± 0 |
| Aqueous extract | 6 ± 0 | 6 ± 0 | 6 ± 0 | 6 ± 0 | 6 ± 0 |

Standard deviation from mean indicated by ± sign.

Concluzii

Acest studiu sugerează că extractele de semințe și frunze de *Achyranthes aspera* pot inversa rezistența la antibiotice fără efecte secundare asupra corpului uman și că pot inversa rezistența la antibiotice în mod natural.



Review

Approachable Synthetic Methodologies for Second-Generation β -Lactamase Inhibitors: A Review

Noor Fatima ¹, Shehla Khalid ¹, Nasir Rasool ^{1,*}, Muhammad Imran ², Bushra Parveen ¹, Aqsa Kanwal ¹, Marius Irimie ³ and Codrut Ioan Ciurea ³

Fatima N, Khalid S, Rasool N, Imran M, Parveen B, Kanwal A, Irimie M, Ciurea CI. Approachable Synthetic Methodologies for Second-Generation β -Lactamase Inhibitors: A Review. *Pharmaceuticals* 2024;17(9), 1108. ISSN 1424-8247. <https://www.mdpi.com/1424-8247/17/9/1108>

Creșterea și răspândirea microorganismelor rezistente la antibiotice reprezintă o amenințare gravă pentru sănătatea publică la nivel mondial (Ventola, 2015). Răspunsul global la provocarea rezistenței bacteriene este implementat urgent de guverne, companii farmaceutice și instituții academice din cauza nivelurilor îngrijorătoare de rezistență. Pentru a aborda această problemă, Organizația Mondială a Sănătății a elaborat o „listă internațională a bacteriilor rezistente la antibiotice” (Gavara, et al., 2021). În primul rând, trebuie vizate diferite bacterii oportuniste Gram-negative, puțin până la extrem de rezistente la medicamente (cum ar fi *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter baumannii* și *Pseudomonas aeruginosa*, dar și *Klebsiella pneumoniae* și *Escherichia coli*). Astfel de bacterii sunt capabile să reziste cefalosporinelor de ultimă generație, precum și carbapenemelor, care sunt antibiotice recomandate în spital. Astfel de medicamente fac parte din clasa β -lactamelor, antibiotice care este cel mai frecvent prescrise pentru tratarea infecțiilor bacteriene. Astfel, este necesară o nouă generație de β -lactame care să reușească să depășească mecanismele de rezistență și să încorporeze alte tipuri de bacterii.

Bacteriile dezvoltă rezistență la antibioticele β -lactamice prin mecanisme multiple. Cel mai frecvent mecanism de rezistență observat atât la bacteriile Gram-pozitive, cât și la Gram-negative este producerea de enzime hidrolitice cunoscute sub numele de β -lactamaze. Aceste enzime perturbă legăturile amidice din antibioticele β -lactamice, făcându-le ineficiente împotriva țintelor bacteriene (Tooke, et al., 2019).

În ultimele decade s-a observat o scădere a numărului antibioticelor eficiente pentru a trata chiar și infecțiile ușoare cauzate de bacteriile care produc β -lactamaze din cauza creșterii variațiilor enzimelor. Cercetătorii se concentrează în prezent pe găsirea de noi inhibitori ai β -lactamazei (BLIs) din diverse surse și pe crearea de tactici care pot preveni dezvoltarea bacteriilor rezistente la medicamente, având în vedere generarea de noi medicamente pentru a aborda această problemă. În consecință, pentru a trata infecțiile bacteriene rezistente, au fost utilizați inhibitori ai β -lactamazei (BLIs), cum ar fi tazobactam, sulbactam și clavulanat, în combinație cu antibiotice β -lactamice. De atunci, creșterea rezistenței la antibiotice în întreaga lume a făcut ca acești inhibitori să fie mai puțin eficienți în practica clinică. În consecință, a crescut nevoia de a genera inhibitori de β -lactamaze (BLI) de „a doua generație” pentru a combate tulpinile bacteriene rezistente. Acidul boronic biciclic, inhibitorii metalo- β -lactamazei și diazabicyclooctanul (DBO) constituie a doua clasă de BLI non- β -lactamice (Vázquez-Ucha, et al., 2020).

În această revizuire, au fost discutate evoluțiile majore către sinteza inhibitorilor de β -lactamaze din a doua generație, împreună cu abordări și tehnici utile pentru dezvoltarea inhibitorilor care funcționează pentru o serie de enzime. A fost efectuată o analiză pe cinci ani a evoluției inhibitorilor de β -lactamaze, recapitulând evoluția biologică și descriind abordările de dezvoltare care produc noi inhibitori de β -lactamaze. În chimie, inhibitorii de beta-lactamaze de a doua generație sunt esențiali, deoarece fac lumină asupra mecanismelor din spatele inhibiției enzimatică, direcționează dezvoltarea de noi medicamente pentru a aborda rezistența la antibiotice și ghidează eforturile de proiectare a medicamentelor. Cercetarea lor este esențială pentru extinderea cunoștințelor noastre despre rezistența la antibiotice și dezvoltarea de noi strategii pentru a aborda această problemă de sănătate la nivel mondial (Fatima, et al., 2024).

Capitolul 2. Evoluție și dezvoltare profesională

2.1. Dezvoltarea carierei profesionale

În anul 2002 am absolvit ca șef de promoție Facultatea de Medicină din cadrul Universității Transilvania din Brașov. În același an, în urma susținerii examenului național de rezidențiat am devenit medic rezident în specialitatea dermato-venerologie. În perioada ianuarie 2003 – decembrie 2007 am urmat modulele de pregătire în rezidențiat în centrul universitar Brașov. Ca urmare a pregătirii de specialitate și susținerii examenelor specifice, în 2007 am obținut calificarea de medic specialist (confirmare prin Ordinul Ministrului Sănătății nr. 2140/2007), pentru ca ulterior în 2012 pe cea de medic primar în dermato-venerologie (Ordinul Ministrului Sănătății nr. 848/2012). După obținerea certificării de medic specialist în 2007 am activat în ambulatoriul SC DERMAMED SRL Brașov, iar din 2012 în secția de dermatologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Brașov unde activez și în prezent.

Carierea mea academică a început în anul 2003 ca preparator universitar la Facultatea de Medicină a Universității Transilvania din Brașov, unde mi-am desfășurat activitatea (lucrări practice de dermatovenerologie) sub supervizarea domnului prof. dr. med. Alexandru Oanță. În anul 2014 am promovat prin concurs ca șef de lucrări, iar în 2017, ca o recunoaștere a calității activității mele didactice și științifice, am devenit conferențiar universitar.

În tot acest timp am desfășurat activitate didactică, cursuri și lucrări practice de Dermatologie și Dermatocosmetologie cu studenții programului de studii Medicină; Dermatologie cu studenții de la Asistență medicală generală și Balneofiziokinetoterapie; Micologie. Dermatologicologie cu studenții programului de studii Laborator clinic; cursuri și seminarii de Metodologia cercetării științifice la programele de studii de licență Medicină și masterat Managementul și strategiile îngrijirilor paliative.

Am depus toate eforturile pentru ca noțiunile însușite de studenți la cursuri și lucrări practice să constituie o bază solidă necesară viitoarei activități medicale. Proiectarea didactică a fost fundamentată pe achiziții anterioare de învățare ale studenților asigurând caracterul aplicativ al

proiectării curriculare pentru disciplinele *Dermatologie, Dermatologicologie, Dermatocosmetologie și Metodologia cercetării științifice*. Asigurarea caracterului aplicativ al proiectării curriculare l-am realizat prin includerea strategiilor didactice axate pe formarea competențelor prevăzute de programă, prin includerea conținuturilor care să îmbine aspectele teoretice cu cele practice promovând astfel interdisciplinaritatea. Am promovat în activitatea didactică metodele de învățare activ-participative centrate pe student, individualizarea procesului de învățământ în funcție de nevoile studenților, învățarea și încurajarea studenților să își evalueze propriile performanțe. În sprijinul procesului de învățare am pus la dispoziția studenților pe platforma de e-learning în format electronic materiale educaționale și resurse didactice actualizate continuu.

În fiecare an am coordonat lucrări de finalizare a studiilor la toate programele de studii la care am susținut activități didactice, majoritatea fiind apreciate cu calificativ maxim de către comisiile de licență, iar unele dintre lucrări fiind premiate în cadrul sesiunilor de comunicări științifice studențești.

De asemenea, în fiecare an am făcut parte din comisia de evaluare a lucrărilor de licență la programul de studii Medicină.

Activitatea mea educațională este apreciată de către studenți în anul universitar 2022-2023 fiind încununată cu nominalizarea în competiția *Cel mai apreciat profesor*.

Prin activitatea mea didactică am încercat să insuflu frumusețea dermatologiei și studenților la medicină, mulți dintre ei alegându-și profesia în această specialitate. De asemenea, începând cu anul 2018 am fost numit în calitate de coordonator al rezidenților de dermatovenerologie din centrul universitar Brașov. În această calitate am susținut cursuri pentru medicii rezidenți, pe care i-am susținut pentru implicarea în activitatea științifică și participarea la conferințe pe teme din domeniul specialității. În anul 2017 în calitate de membru al comisiei de specialitate a Ministerului Sănătății am contribuit la realizarea curriculumului de pregătire în specialitatea dermatovenerologie.

2.2 Teza de doctorat și alte proiecte de cercetare

Teza de doctorat cu titlul *Cercetări clinice și de laborator în afecțiunile cutanate umane produse de ciuperci keratinofile filamentate la pacienții imunocompromiși*, efectuată sub coordonarea domnului prof. univ. dr. Alexandru Tătaru de la Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" din Cluj-Napoca, am susținut-o în anul 2012, titlul de doctor în medicină fiind confirmat prin Ordinul Ministerului Educației, Cercetării, Tineretului și Sportului numărul 6508 din 19.12.2012).

Spectrul dermatofiților izolați din leziunile cutanate s-a schimbat mult în ultimii 100 de ani reflectând modificările socio-economice, ale stilului de viață și posibilitățile de migrație ale populației. Infecțiile dermatofitice sunt în general superficiale, dar la indivizii imunocompromiși pot cauza infecții diseminate severe.

Principalele obiective ale studiului realizat în cadrul tezei de doctorat au fost: evaluarea frecvenței formelor clinice de infecții dermatofitice, incidența infecției cu ciuperci filamentate keratinofile și identificarea speciilor dermatofitice responsabile la pacienții imunocompromiși, acuratețea PCR RT în diagnosticul infecțiilor cutanate cu ciuperci keratinofile filamentate și determinarea sensibilității ciupercilor keratinofile filamentate la substanțele antimicotice utilizate în tratamentul sistemic al dermatofiților.

În cadrul tezei am efectuat un studiu prospectiv, longitudinal, de tip observațional, pe un lot de 638 de pacienți cu infecții dermatofitice cutanate în perioada 2009-2011. De la fiecare pacient inclus în studiu s-a recoltat material patologic de la nivelul leziunilor cutanate: scuame, fragment unghial sau fire de păr. Din fiecare mostră s-a efectuat examen microscopic direct, cultură pe mediul Sabouraud și analiză prin PCR RT. Testarea sensibilității la cinci antifungice (ketoconazol, itraconazol, fluconazol, voriconazol, terbinafină) a fost efectuată utilizând metoda microdiluțiilor succesive în mediu de cultură lichid.

Sensibilitatea tehnicii PCR RT a fost mai ridicată decât a metodelor clasice de diagnostic micologic. Prevalența infecțiilor dermatofitice în lotul pacienților imunocompromiși a fost de 33,9% comparativ cu 29,27% în lotul martor. *Trichophyton rubrum* a fost principalul agent cauzator al infecțiilor

dermatofitice în toate subgrupurile populaționale studiate cu un procent total de 72,9%. Pentru toate speciile dermatofitice testate terbinafina a avut cea mai bună activitate antidermatofitică, iar fluconazolul a avut activitatea antidermatofitică cea mai redusă. Luând în considerare toate speciile dermatofitice izolate, nu au fost observate diferențe semnificative statistic între sensibilitatea tulpinilor dermatofitice izolate de la pacienții imunocompromiși și cea obținută de la pacienții lotului martor. Deși PCR RT pare a fi mai scumpă decât însămânțarea pe mediul de cultură, diferența de cost nu este foarte mare, PCR putând înlocui ambele metode clasice de diagnostic micologic, și fiind astfel justificată utilizarea tehnicii PCR RT de rutină și în laboratoarele clinice.

Teza de doctorat a fost apreciată atât de conducătorul de doctorat dl. prof. univ. dr. Alexandru Tătaru, cât și de comisia științifică formată din prof. univ. dr. Rodica Cosgarea, prof. univ. dr. Alexandru Oanță și prof. univ. dr. Silviu Morariu, drept o lucrare de un real interes științific și practic.

În decursul timpului am demonstrat capacitatea de a lucra în echipe de cercetare colaborând cu colegii din țară în cadrul unor proiecte de cercetare:

- Rozaceea și factorii de risc cardiovasculari (ROZCARD) - în cadrul competiției naționale de proiecte a Societății Române de Dermatologie 2017, Director de proiect 2017-2018.
- Studiul leziunilor cutanate premaligne și maligne la persoanele cu expunere cronică ocupațională și non-ocupațională la radiațiile solare, proiect câștigat prin competiție UMFST Târgu Mureș, 2015, membru în echipă.
- 13-25 May 2013 - Partener și coordonator, lector - Erasmus Intensive Programme 12-EIP-RO BRASOV01-BIS "Telemonitoring and Telediagnostic for Life Sciences", membru în echipă.

Încă din primii ani de activitate profesională am participat ca investigator sau co-investigator la numeroase trialuri clinice fapt ce m-a ajutat în formarea deprinderilor de management și de etică ale cercetării:

- Efficacy and safety of CD5024 1% cream versus metronidazole 0.75% cream in subjects with papulopustular rosacea over 16 weeks' treatment, followed by an 36-week extension period - 2012;

- *A phase III 3 arms, multicenter, randomised, investigator-blind study to assess the efficacy and safety of ozenoxacin 1% cream applied twice daily for 5 days versus placebo in the treatment of patients with impetigo – 2012-2013;*

- *Efficacy of the V0034CR01B emollient on xerosis in children with atopic dermatitis. Randomised, vehicle-controlled, parallel-groups, double-blind study with an open label extension – 2012;*

- *Non inferiority study of a malathion 0.5% lotion versus reference therapy in the treatment of head lice: multicentre, randomised, investigator masked, parallel group – 2010.*

Rezultatele acestor proiecte de cercetare s-au concretizat în numeroasele articole publicate în colaborare cu specialiști de marcă din țară și străinătate, în reviste cu factor de impact ridicat și comunicări la congrese și conferințe naționale și internaționale.

2.3 Recunoașterea națională și internațională

Sunt membru al mai multor organizații profesionale naționale și internaționale:

- European Academy of Dermato-Venereology
- Societatea Română de Dermatologie
- Societatea Română de Dermato-oncologie
- Asociația Dermatologilor Transilvani
- Asociația Dermatologilor din Moldova
- Uniunea Medicală Balcanică.

Apartenența la aceste asociații profesionale mi-a permis să fiu colaborator la organizarea mai multor evenimente științifice în decursul timpului, și participarea în mod constant la conferințele organizate de aceste asociații, la majoritatea prezentând lucrări științifice (prezentări orale, postere, lucrări în extenso) rezultate din activitatea mea de cercetare.

Din mai 2017 până în august 2018 am fost vicepreședinte al comisiei consultative de Dermatovenerologie a Ministerului Sănătății din România, perioadă în care am contribuit la realizarea curriculumului de pregătire a medicilor rezidenți în specialitatea dermatovenerologie.

Din 2016 sunt editor asistent iar din 2023 senior editor la *Bulletin of the Transilvania University of Brasov. Series VI: Medical Sciences* (https://webbut.unitbv.ro/index.php/Series_VI/Editorial_Board) și responsabil de număr la *Jurnalul Medical Brașovean*, ambele reviste fiind indexate în baze de date internaționale (<https://webbut.unitbv.ro/index.php/jmb/about/editorialTeam>).

The screenshot shows the Editorial Board page for the journal. The navigation bar includes Home, Aim, Editorial Board, Scientific Committee, Peer review, Author guidelines, Archives, and About. The main content area is titled 'Editorial Board' and lists the following members:

- Editor-in-Chief:** Mariana TRIVALACHE-LE, e-mail: mariala.pesutache@unitbv.ro
- Senior Editor:** Marius IRIMIE, e-mail: mariusirimie@unitbv.ro
- Co-editors:** Liliana ROGOZEA, Marius MOGA

Additional information includes the website (<https://webbut.unitbv.ro/index.php/bulletin/>), webmaster (Corina Morosca FCI), address (29, Eroilor St., 500336, Brasov, Romania), phone (+40-268-410525), and email (editorial@unitbv.ro). The journal information section provides details such as Title, Publishing House (Transilvania University Press), Subject(s) (Medical Sciences), Frequency (2 (since 2011)), ISSN (Print), ISSN (CD-ROM), ISSN (Online), ISSN-L, and Status (Active). High visibility logos for EBSCO, ProQuest, and Crossref are also displayed.

Recunoașterea internațională este concretizată prin numărul lucrărilor științifice publicate în reviste cu vizibilitate ridicată în bazele de date internaționale: 17 articole în ISI Web of Science (FCIAP de 33,78) având 162 de citări cu un index Hirsch de 9.

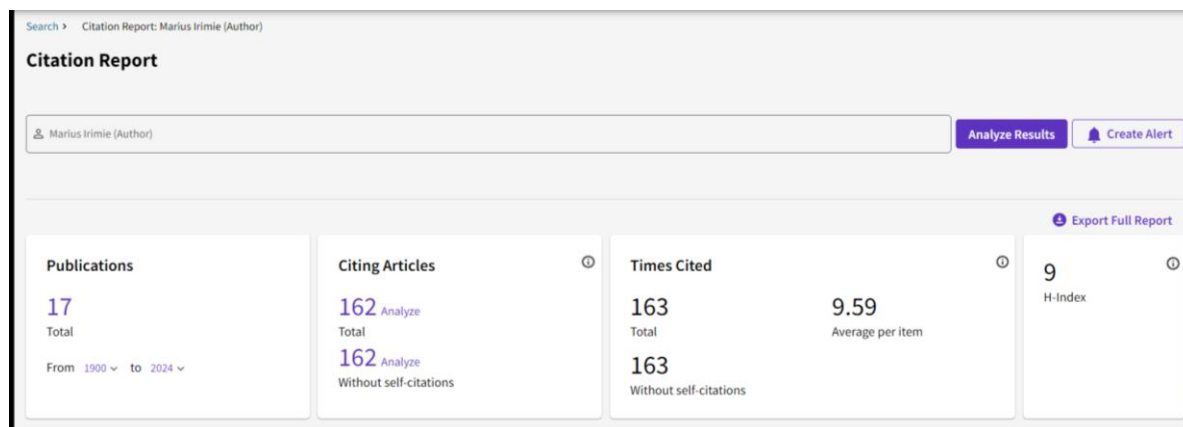
The screenshot shows the ISI Web of Science profile page for Marius Irimie. The profile includes the following information:

- Name:** Marius Irimie (verified)
- Affiliation:** (Irimie, Marius) | Transilvania University of Brasov
- Identifiers:** Web of Science ResearcherID: AAB-3925-2020, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4757-0006>
- Published names:** Irimie, Marius; Irimie, M.
- Organization:** Transilvania University of Brasov
- Subject Categories:** Dermatology; Pharmacology & Pharmacy; Plant Sciences; Toxicology; Oncology

The 'Documents' section shows 17 publications indexed in Web of Science. The 'Metrics' section displays the following statistics:

- Profile summary:** 21 Total documents, 18 Publications indexed in Web of Science, 17 Web of Science Core Collection publications, 1 Preprint, 0 Dissertations or Theses, 3 Non-indexed publications, 0 Verified peer reviews, 0 Verified editor records.
- Web of Science Core Collection metrics:** 9 H-Index, 17 Publications, 163 Sum of Times Cited, 162 Citing Articles, 0 Times Cited, 0 (unlabeled).

The page also includes a 'Verify your Author Record' section with a 'Go to author search' button and a 'Metrics' section with an 'Open dashboard' button.



2.4 Experiența de management și conducere

În anul 2016 prin votul colegilor de departament am fost ales în funcția de director al departamentului Specialități Medicale și Chirurgicale din cadrul Facultății de Medicină, Universitatea Transilvania din Brașov, funcție pe care o ocup și în prezent fiind ales pentru al treilea mandat. Departamentul Specialităților Medicale și Chirurgicale din cadrul Universității Transilvania Brașov coordonează programele de studii de licență Medicină și de masterat Managementul și strategiile îngrijirilor paliative. Departamentul Specialităților Medicale și Chirurgicale cuprinde actualmente 41 de cadre didactice (7 profesori, 6 conferențieri, 19 șefi de lucrări și 9 asistenți universitari), care deservește discipline heterogene din domeniul medical (medicină internă, pediatrie, neurologie, terapie intensivă, medicină de urgență, dermatologie, oncologie) și chirurgical (chirurgie generală, obstetrică-ginecologie, oftalmologie, ORL, urologie, ortopedie și traumatologie, chirurgie plastică).

În cei 8 ani de mandat de director de departament m-am axat pe menținerea unor standarde de calitate ridicate a activității didactice prin asigurarea coerenței și actualității planurilor de învățământ și a fișelor disciplinelor, pe respectarea planificării activităților didactice, evaluarea internă a calității predării și corectarea deficiențelor identificate. Am promovat colaborarea coordonatorilor de discipline ai departamentului nostru în vederea unei abordări integrate, unitare, a programelor analitice ale disciplinelor care să faciliteze studenților dezvoltarea cunoștințelor și competențelor necesare în etapele ulterioare. Am încurajat și sprijinit formarea profesională continuă a cadrelor didactice atât din punct de vedere medical cât și didactic prin încurajarea participării acestora la stagii de pregătire în străinătate prin participarea în proiectele de mobilitate a cadrelor didactice; realizarea de materiale

didactice proprii în format tipărit/electronic astfel încât fiecare disciplină a departamentului să dispună de astfel de materiale pentru facilitarea procesului de învățare al studenților; creșterea gradului de utilizare a tehnologiilor moderne de predare și utilizarea platformei e-learning.

În domeniul resurselor umane am susținut la nivelul departamentului o politică sustenabilă prin creșterea gradului de acoperire cu cadre didactice titulare a posturilor vacante din statele de funcțiuni și prin consolidarea piramidei academice. Am militat continuu pentru promovarea cadrelor didactice cu rezultate remarcabile, atât didactice cât și de cercetare științifică, pe funcții didactice superioare conform prevederilor legale și în raport cu aportul fiecăruia la activitatea departamentului, facultății și universității, precum și angajarea prin concurs de noi cadre didactice tinere, fiind încurajate în acest sens persoane bine pregătite, cu o bună înțelegere a cerințelor actuale ale mediului academic, îndeosebi a doctoranzilor din cadrul departamentului, ținându-se seama însă și de menținerea unei structuri echilibrate a facultății în ceea ce privește numărul de studenți și raportul studenți/cadre didactice.

În domeniul științific și de cercetare am acționat în sensul creșterii calității și vizibilității naționale și internaționale a activității de cercetare științifică a departamentului. Conform standardelor actuale cercetarea și diseminarea rezultatelor cercetării nu mai sunt doar opționale, ci obligatorii pentru întreaga comunitate academică din România. Performanța în cercetarea științifică a membrilor departamentului sunt în strânsă corelație cu dezvoltarea acestuia și a programelor de studiu pe care le coordonează.

Tot din anul 2016 ocup pentru al treilea mandat consecutiv funcția de coordonator al centrului de cercetare al departamentului: CENTRUL DE CERCETARE ÎN MEDICINĂ APLICATĂ ȘI STRATEGII INTERVENȚIONALE ÎN PRACTICA MEDICALĂ (AMISMP). Am inițiat formarea de grupuri de lucru departamentale și interdepartamentale alcătuite din cadrele didactice care predau atât la disciplinele clinice cât și la cele preclinice, cu implicarea activă și a doctoranzilor și masteranzilor. Am încurajat participarea membrilor departamentului la instruirile privind proiecte și oportunități de cercetare organizate de universitate. Am valorificat experiența directorilor de proiecte de cercetare pentru a sprijini accesarea de noi proiecte de cercetare și de către alți membri ai departamentului. De asemenea am valorificat existența relațiilor de colaborare ale membrilor departamentului cu parteneri interni sau externi prin încheierea de acorduri, contracte și parteneriate de cercetare cu aceștia, în scopul

dezvoltării infrastructurii de cercetare și a bazei materiale aferente prin elaborarea de proiecte de cercetare. În anul 2022 centrul de cercetare pe care în coordonez a aplicat pentru proiectul „Transformare digitală pentru inovare și competitivitate” (cod 1251096851) din cadrul Planului Național de Redresare și Reziliență al României și a obținut finanțare pentru achiziția de sisteme și echipamente digitale pentru centrul de simulare medicală absolut necesare pentru aplicarea metodelor inovative de predare-învățare și dezvoltarea abilităților practice și competențelor digitale. Toți studenții de la ciclurile licență, masterat, doctorat, precum și rezidenții și cadrele didactice ale universității vor avea acces la infrastructura digitală dezvoltată prin acest proiect.

(B-ii) Planuri de evoluție și dezvoltare a carierei

Planurile proprii de dezvoltare și evoluție profesională se bazează pe activitățile mele didactice și profesionale anterioare, iar obținerea recunoașterii dreptului de coordonare a tezelor de doctorat reprezintă o nouă etapă în viitoarea activitate profesională și științifică. Pe viitor, consider că este o prioritate îmbinarea activității didactice cu activitatea de cercetare și activitatea clinică, întrucât acești trei piloni indispensabili ai excelenței profesionale lucrează împreună pentru a crea o identitate profesională de succes. Dezvoltarea profesională medicală include competență profesională, identitate profesională și bune abilități de predare. Am încercat să-mi ghidez viitorul plan de dezvoltare după o privire profundă în interiorul aspirațiilor personale, punctelor forte, valorilor, priorităților, rolurilor actuale și priorităților personale și ale departamentului.

1. Plan de dezvoltare a carierei profesionale

Dezvoltarea profesională este în strânsă interrelație cu dezvoltarea academică. Analizând activitatea mea profesională desfășurată până în prezent de peste 20 de ani și identificând abilitățile și competențele mele profesionale îmi propun ca prin abilitarea în domeniul medicină și afilierea ulterioară la Școala Doctorală Interdisciplinară a Universității Transilvania din Brașov să pot continua proiectele mele de cercetare și didactice prin cooptarea în cadrul unor echipe multidisciplinare ceea ce îmi va permite valorificarea de noi oportunități.

Unul dintre principalele obiective ale dezvoltării profesionale este de continuare a procesului de instruire pentru acumularea de cunoștințe care să îmi permită dobândirea de noi aptitudini și competențe necesare desfășurării atât a activității medicale în domeniul de specialitate. Voi menține în permanență corelația dintre achiziția de noi competențe în domeniul dermatovenerologiei, dermatomicologiei și dermatocosmetologiei cu activitățile didactice și de cercetare.

Voi continua dezvoltarea abilităților de lucru în echipă, cu respect pentru valorile eticii profesionale pentru luarea deciziilor terapeutice corecte în concordanță cu ghidurile de tratament având drept scop final satisfacția pacienților.

2. Plan de dezvoltare a activității didactice

În calitate de cadru didactic universitar, îmi voi continua activitatea cu pasiune și dăruire axându-mă pe îmbunătățirea calității actului de predare-învățare-evaluare, cu centrarea acestuia pe student. În scopul autoperfecționării și atingerii obiectivelor didactice propuse am elaborat următoarele obiective de dezvoltare a activității didactice:

- promovarea unui sistem educațional modern axat pe activități didactice activ-participative care să asigure formarea competențelor medicale;
- corelarea și armonizarea continuă a conținutului cursurilor cu curricula europeană și internațională;
- menținerea unor standarde de calitate ridicate a activității didactice prin asigurarea coerenței și actualității planurilor de învățământ și a fișelor disciplinelor, respectarea planificării activităților didactice, evaluarea internă a calității predării și corectarea deficiențelor identificate;
- actualizarea permanentă a materialelor didactice pentru disciplinele la care sunt titular;
- individualizarea metodelor de predare în funcție de nevoile studenților;
- asigurarea unui feed-back permanent cu privire la cunoștințele oferite și metodele de predare utilizate în cadrul disciplinelor predate;
- creșterea gradului de utilizare a tehnologiilor moderne de predare și utilizarea platformei e-learning;
- voi continua coordonarea studenților/masteranzilor/medicilor rezidenți/doctoranzilor în vederea participării la conferințe naționale și internaționale.
- diseminarea rezultatelor cercetării împreună cu studenții, doctoranzii și medicii rezidenți pe care îi coordonez la conferințe, respectiv în publicații naționale/internaționale

stimulându-le aptitudinile de cercetare, asigurând astfel și o corelație între activitatea didactică și cea de cercetare.

3. Plan de dezvoltare pentru activitatea de cercetare

Conform standardelor actuale cercetarea și diseminarea rezultatelor cercetării au devenit obligatorii pentru întreaga comunitate academică din România. Performanța în cercetarea științifică trebuie să fie în strânsă corelație cu activitatea didactică și medicală.

Planul de dezvoltare a activității de cercetare va fi axat în continuare pe principalele linii directoare ale activității mele de cercetare în care am fost implicat până în prezent, cel al patologiei dermatologice în general, și cel al dermatozelor infecțioase și inflamatorii în mod particular. În plus, în urma rezultatelor cercetărilor din ultimii ani s-au conturat două noi direcții, cea a medicinei interdisciplinare și cea a medicinei integrative.

Psoriazisul este o afecțiune inflamatorie cronică a pielii, proliferativa, cu determinism genetic. Dacă inițial a fost considerată o afecțiune dermatologică benignă, acum este considerată din ce în ce mai mult o afecțiune inflamatorie sistemică decât una limitată la piele și articulații. Aceste perturbări extracutanate care au fost legate de psoriazis includ sindromul metabolic, obezitatea, bolile cardiovasculare, diverse afecțiuni maligne, bolile autoimune, boala cronică de rinichi, tulburările psihiatrice, fumatul sau abuzul de alcool (Irimie et al., 2015a). În ciuda dovezilor care susțin o prevalență crescută a acestor factori de risc în rândul pacienților cu psoriazis, datele sugerează că pacienții sunt puțin evaluați și tratați pentru aceste comorbidități. Odată cu apariția terapiilor biologice, tratamentul psoriazisului s-a schimbat radical datorită eficacității și siguranței sale ridicate, ceea ce induce o persistență mai îndelungată a rezultatelor, o mai mare satisfacție a pacientului și o reducere a impactului psihologic al bolii psoriazice.

În psoriazis, interacțiunea dintre celulele sistemului imunitar înăscut (macrofage, neutrofile), celulele aparținând imunității adaptative (celule T și B) și celulele rezidente

(keratinocite, melanocite) susține inflamația cronică (Schön, 2019). Toate datele teoretice sunt strâns legate de noile terapii emergente. Din cauza dezvoltării rapide a numeroase molecule biologice, dermatologii se confruntă acum cu o nouă dilemă, și anume care moleculă va da rezultate mai bune la un anumit pacient. Această dilemă vine atât din particularitățile pacienților, cât și din diferitele puncte țintă ale medicamentelor. Deoarece știm că psoriazisul implică atât citokine reglatoare, cum ar fi IL-23, cât și citokine efectoare, cum ar fi IL-17, interesul meu principal a fost să încerc să definesc un algoritm pentru selecția medicamentelor.

Terapia biologică este din ce în ce mai utilizată pentru a trata formele severe de psoriazis. Deși terapiile biologice vizează doar partea sistemului imunitar care acționează în exces, îngrijorările cu privire la posibilul risc de cancer sunt justificate. Riscul de NMSC și melanom în urma utilizării TNFi a fost studiat pe larg în rândul pacienților cu poliartrită reumatoidă și boala Crohn, dar mai puțin în rândul pacienților cu psoriazis (Costache, 2023). Conceptul de sindrom inflamator sistemic este unul dintre fundamentele care stau la baza terapiilor revoluționare moderne și viitoare. Se bazează pe înțelegerea în profunzime a mecanismelor delicate care guvernează colaborarea dintre sistemele și organele corpului uman și echilibrul fin care asigură o funcționare fără reproș. Descoperirea relativ recentă a rolului complicat și complex al citokinelor în patofiziologia diferitelor boli (considerate anterior determinate și manifestate doar local) a modelat o nouă înțelegere și abordare a acestor boli, psoriazisul fiind doar una dintre ele.

O altă temă de cercetare va fi cea a leziunilor precanceroase și potențialului lor de transformare malignă, referindu-mă atât la leziunile melanocitare cât și la cele nonmelanocitare, propunându-mi un program de screening mai intensiv cu o sensibilizare și o implicare mai intensă a medicilor de familie pentru promovarea unor măsuri de educație în rândul populației cu privire la evitarea factorilor de risc ai apariției leziunilor precanceroase și canceroase și referirea la dermatolog pentru evaluarea leziunilor cutanate suspecte. Aceste măsuri ar avea drept rezultat teoretic o scădere a incidenței cancerelor cutanate.

Alte câteva idei novatoare de cercetare în dermatologie care explorează atât tehnologiile emergente, cât și domeniile neexploatate ale sănătății pielii:

- Folosirea inteligenței artificiale și a algoritmilor de învățare automată pentru a îmbunătăți diagnosticul bolilor cutanate, precum melanomul, prin analiza automată a imaginilor dermatoscopice.
- Studii pentru dezvoltarea unor noi compușilor bioactivi și a nanotehnologiilor pentru îmbunătățirea protecției solare, reducerea îmbătrânirii premature și prevenirea cancerului de piele.
- Dezvoltarea tratamentelor personalizate bazate pe analiza genetică și microbiomul pielii pentru afecțiuni cutanate precum acneea, dermatita atopică sau cancerul de piele.
- Investigarea utilizării celulelor stem pentru tratarea cicatricilor, arsurilor severe și afecțiunilor degenerative ale pielii, precum psoriazisul sau vitiligo.
- Investigarea imunoterapiei pentru tratarea afecțiunilor autoimune și inflamatorii ale pielii, precum lupusul, psoriazisul sever sau vitiligo.
- Analiza interacțiunii dintre microbiomul pielii și dezvoltarea afecțiunilor inflamatorii, precum dermatita atopică, acneea și rosaceea, și dezvoltarea de noi terapii probiotice.
- Efectele stresului oxidativ și ale antioxidanților asupra îmbătrânirii pielii: cercetarea modului în care antioxidanții pot contracara efectele stresului oxidativ asupra pielii.

Aceste idei reflectă tendințele actuale și viitoare din dermatologie, cu un accent pe inovație, personalizare și tehnologii de vârf.

Activitatea de cercetare va fi bazată și valorificată astfel:

- rezultatele activității de cercetare vor fi valorificate prin publicarea acestora în reviste indexate în BDI/ISI Web of Science și susținerea de lucrări științifice la conferințe naționale și internaționale;

- identificarea de granturi/burse de cercetare pentru viitorii studenți doctoranzi și sprijinirea lor pentru aplicarea la competiții științifice naționale și internaționale;
- extinderea colaborării pe teme de interes științific cu parteneri din alte universități din țară și străinătate;
- continuarea colaborării în echipe de cercetare în desfășurarea de studii clinice în domeniile de competență;
- organizarea de evenimente științifice sub egida Universității Transilvania din Brașov;
- dezvoltarea și promovarea revistelor la care sunt membru în echipa de redacție *Bulletin of Transilvania University of Brașov. Series VI. Medical Sciences* și *Jurnal Medical Brașovean* prin creșterea vizibilității acestora prin includerea în noi baze de date internaționale și prin invitarea unor lideri de opinie medicală din alte universități din țară și străinătate de a publica articole în aceste reviste.

(B-iii) Bibliografie

- Abdelaziz AM, Mahmoud KM, Elsayy EM, Bakr MA. Nail changes in kidney transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25:274-7. DOI: [10.1093/ndt/gfp486](https://doi.org/10.1093/ndt/gfp486)
- Ahmad H, Gohar UF, Mukhtar H, Zia-Ui-Haq M, Marc RA, Irimie M, Marceanu LG, Gavris CM. Achyranthes aspera Extracts as Adjuvants for the Redressal of Antibiotic Resistance. *Pharmaceutics*. 2022 Oct 18;14(10):2219. DOI: [10.3390/pharmaceutics14102219](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14102219)
- Alpsoy S, Akyuz A, Erfan G, Akkoyun DC, Topcu B, Guzel S, et al. Atherosclerosis, some serum inflammatory markers in psoriasis. *G Ital Dermatol Venereol*. 2014 Apr;149(2):167-75.
- Altay BU, Saraçoğlu ZN, Kiraz N, Aksu AEK. Superficial Fungal Infections in Patients with Hematologic Malignancies: A Case-Control Study. *Turkderm* 2011; 45:73-6.
- Altmeyer P, Kachel HG, Junger M, Koch KM, Holzmann H. Skin changes in long term dialysis patients. Clinical study. *Hautarzt* 1982, 33:137-142.
- Akcali C, Buyukcelik B, Kirtak N, Inaloz S. Clinical and laboratory parameters associated with metabolic syndrome in Turkish patients with psoriasis. *J Int Med Res*. 2014; 42(2): 386-94. DOI: [10.1177/0300060513502891](https://doi.org/10.1177/0300060513502891)
- Ambrosius W, Kazmierski R, Gupta V, Warot AW, Adamczewska-Kociałkowska D, Błazejewska A, et al. Low free triiodothyronine levels are related to poor prognosis in acute ischemic stroke. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2011 Mar;119(3):139-43. DOI: [10.1055/s-0030-1267918](https://doi.org/10.1055/s-0030-1267918)
- Ameen M. Epidemiology of superficial fungal infections. *Clin Dermatol*. 2010; 28(2):197. DOI: [10.1016/j.clindermatol.2009.12.005](https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2009.12.005)
- Amies CR. Development of resistance of gonococci to penicillin. An eight-year study. *Can Med Assoc J*. 1967; 96:33-35. PMID: [PMC1936873](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1936873/)
- Aral SO, Holmes KK. Social and behavioral determinants of epidemiology of STDs: industrialized and developing countries. In: Holmes KK, Mardh P-A, Sparling PF, et al., editors. Sexually transmitted diseases. New York: McGraw-Hill; 1999. p. 39-76.
- Armstrong AW, Harskamp CT, Armstrong EJ. Psoriasis and metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68(4):654-662. DOI: [10.1016/j.jaad.2012.08.015](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2012.08.015)
- Balta I, Balta S, Demirkol S, et al. Aortic arterial stiffness is a moderate predictor of cardiovascular disease in patients with psoriasis vulgaris. *Angiology*. 2014;65(1):74-78. DOI: [10.1177/0003319713485805](https://doi.org/10.1177/0003319713485805)
- Barzon L, Giorgi C, Buonaguro FM, Palù G. Guidelines of the Italian Society for Virology on HPV testing and vaccination for cervical cancer prevention. *Infect Agent Cancer*. 2008 Dec 16:3:14. DOI: [10.1186/1750-9378-3-14](https://doi.org/10.1186/1750-9378-3-14)

- Bebell LM, Muir AN. Antibiotic Use and Emerging Resistance: How Can Resource-Limited Countries Turn the Tide? *Glob Heart*. 2014 Sep;9(3):347-58. DOI: [10.1016/j.gheart.2014.08.009](https://doi.org/10.1016/j.gheart.2014.08.009)
- Beamer NB, Coull BM, Clark WM, Briley DP, Wynn M, Sexton G. Persistent inflammatory response in stroke survivors. *Neurology*. 1998 Jun;50(6):1722-8. DOI: [10.1212/wnl.50.6.1722](https://doi.org/10.1212/wnl.50.6.1722)
- Beeton ML, Payne MS, Jones L. The Role of Ureaplasma spp. in the Development of Nongonococcal Urethritis and Infertility among Men. *Clin Microbiol Rev*. 2019 Jul 3;32(4):e00137-18. DOI: [10.1128/CMR.00137-18](https://doi.org/10.1128/CMR.00137-18)
- Bello BD, Spinillo A, Alberizzi P, Cesari S, Gardella B, D'Ambrosio G, et al. Cervical infections by multiple human papillomavirus (HPV) genotypes: prevalence and impact on the risk of precancerous epithelial lesions. *J Med Virol*. 2009 Apr;81(4):703-12. DOI: [10.1002/jmv.21429](https://doi.org/10.1002/jmv.21429)
- Benachour H, Zaiou M, Samara A, et al. Association of human cathelicidin (hCAP-18/LL-37) gene expression with cardiovascular disease risk factors. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2009; 19: 720–728. DOI: [10.1016/j.numecd.2009.01.001](https://doi.org/10.1016/j.numecd.2009.01.001)
- Benítez G, González-Tejero R, Mesa JM. Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): Ethnopharmacological synthesis. *J. Ethnopharmacol*. 2010 May 4;129(1):87-105.. DOI: [10.1016/j.jep.2010.02.016](https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.02.016)
- Bernstein PS, Li B, Vachali PP, Gorusupudi A, Shyam R, Henriksen BS, Nolan JM. Lutein, zeaxanthin, and mesozeaxanthin: The basic and clinical science underlying carotenoid-based nutritional interventions against ocular disease. *Prog. Retin. Eye Res*. 2016, 50, 34–66. DOI: [10.1016/j.preteyeres.2015.10.003](https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2015.10.003)
- Biedenbach DJ, Turner LL, Jones RN, et al. Activity of JNJ-Q2, a novel fluoroquinolone, tested against *Neisseria gonorrhoeae*, including ciprofloxacin-resistant strains. *Diagn Microbiol Infect. Dis*. 2012; 74:204–206. DOI: [10.1016/j.diagmicrobio.2012.06.006](https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.06.006)
- Bignell C, Unemo M. 2012 European guideline on the diagnosis and treatment of gonorrhoea in adults. *Int. J. STD AIDS* 2013; 24:85–92. DOI: [10.1177/0956462412472837](https://doi.org/10.1177/0956462412472837)
- Boehncke W H, Boehncke S, Tobin AM, Kirby B. The 'psoriatic march': a concept of how severe psoriasis may drive cardiovascular comorbidity. *Exp Dermatol*. 2011; 20:303–307. DOI: [10.1111/j.1600-0625.2011.01261.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2011.01261.x)
- Boslego JW, Tramont EC, Takafuji ET, et al. Effect of spectinomycin use on the prevalence of spectinomycin-resistant and penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*. *N Engl J Med*. 1987; 317:272–278. DOI: [10.1056/NEJM198707303170504](https://doi.org/10.1056/NEJM198707303170504)
- Bot I, van Berkel TJ, Biessen EA. Viral serine protease inhibitors as anti-atherosclerotic therapy. *Curr Opin Investig Drugs*. 2007; 8: 729-735.
- Bouyahya A, Et-Touys A, Abrini J, Talbaoui A, Fellah H, Bakri Y, Dakka N. *Lavandula stoechas* essential oil from Morocco as novel source of antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. *Biocatal. Agric. Biotechnol*. 2017, 12, 179–184.

- Brill J. Diagnosis and Treatment of Urethritis in Men. *Am Fam Physician*. 2010 Apr 1;81(7):873-8.
- Brittain C, Childs M, Duley L, et al. Gentamicin versus ceftriaxone for the treatment of gonorrhoea (G-TOG trial): study protocol for a randomised trial. *Trials*. 2016; 17(1):558. DOI: [10.1186/s13063-016-1683-8](https://doi.org/10.1186/s13063-016-1683-8)
- Brown DR, Shew ML, Qadadri B, Neptune N, Vargas M, Tu W, et al. A longitudinal study of genital human papillomavirus infection in a cohort of closely followed adolescent women. *J Infect Dis*. 2005 Jan 15;191(2):182-92. DOI: [10.1086/426867](https://doi.org/10.1086/426867)
- Buerger C, Richter B, Woth K, Salgo R, Malisiewicz B, Diehl S, et al. Interleukin-1 β interferes with epidermal homeostasis through induction of insulin resistance: implications for psoriasis pathogenesis. *J Invest Dermatol*. 2012; 132(9): 2206-14. DOI: [10.1038/jid.2012.123](https://doi.org/10.1038/jid.2012.123)
- Bunevicius A, Kazlauskas H, Raskauskiene N, Janusonis V, Bunevicius R. Thyroid Hormone and C-Reactive Protein Serum Concentrations, Disease Severity and Discharge Outcomes of Ischemic Stroke Patients: A Dataset. *Biomed Data J*. 2015; 1(2): 13-18.
- Bunevicius A, Kazlauskas H, Raskauskiene N, Janusonis V, Bunevicius R. Ischemic stroke functional outcomes are independently associated with C-reactive protein concentrations and cognitive outcomes with triiodothyronine concentrations: a pilot study. *Endocrine*. 2014 Mar;45(2):213-20. DOI: [10.1007/s12020-013-9958-2](https://doi.org/10.1007/s12020-013-9958-2)
- Calabro P, Golia E, Yeh ET. Role of C-reactive protein in acute myocardial infarction and stroke: possible therapeutic approaches. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13:4-16. DOI: [10.2174/138920112798868764](https://doi.org/10.2174/138920112798868764)
- Calamita AB, Calamita Z, Braga JC. Risk factors for cardiovascular disease in psoriasis: relation to inflammation assessed by the severity and duration of illness. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 2013; 12(6): 385-90. DOI: [10.2174/18715281113126660061](https://doi.org/10.2174/18715281113126660061)
- Cámara J, Serra J, Ayats J, et al. Molecular characterization of two high-level ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates detected in Catalonia, Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2012; 67:1858-1860. DOI: [10.1093/jac/dks162](https://doi.org/10.1093/jac/dks162)
- Carrascosa JM, Rocamora V, Fernandez-Torres RM, et al. Obesity and psoriasis: inflammatory nature of obesity, relationship between psoriasis and obesity, and therapeutic implications. *Actas Dermosifiliogr*. 2014;105(1):31-44. DOI: [10.1016/j.ad.2012.08.003](https://doi.org/10.1016/j.ad.2012.08.003)
- Carrillo-Munõz AJ, Tur-Tur C, Hernández-Molina JM, Santos P, Cárdenes D, Giusiano G. Antifungal agents for onychomycoses. *Rev Iberoam Micol*. 2010;27:49-56. DOI: [10.1016/j.riam.2010.01.007](https://doi.org/10.1016/j.riam.2010.01.007)
- Castellsagué X, Menéndez C, Loscertales MP, Kornegay JR, dos Santos F, Gómez-Olivé FX, et al. Human papillomavirus genotypes in rural Mozambique. *Lancet*. 2001 Oct 27;358(9291):1429-30. DOI: [10.1016/S0140-6736\(01\)06523-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)06523-0)
- Catchpole M. Sexually transmitted infections: control strategies. *BMJ*. 2001 May 12;322(7295):1135-6. DOI: [10.1136/bmj.322.7295.1135](https://doi.org/10.1136/bmj.322.7295.1135)

- Chisholm SA, Dave J, Ison CA. High-level azithromycin resistance occurs in *Neisseria gonorrhoeae* as a result of a single point mutation in the 23S rRNA genes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:3812–3816. DOI: [10.1128/AAC.00309-10](https://doi.org/10.1128/AAC.00309-10)
- Ciornei CD, Tapper H, Bjartell A, et al. Human antimicrobial peptide LL-37 is present in atherosclerotic plaques and induces death of vascular smooth muscle cells: a laboratory study. *BMC Cardiovasc Disord.* 2006; 6: 49. DOI: [10.1186/1471-2261-6-49](https://doi.org/10.1186/1471-2261-6-49)
- Clifford GM, Gallus S, Herrero R, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet.* 2005 Sep;366(9490):991-8. DOI: [10.1016/S0140-6736\(05\)67069-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67069-9)
- Coda AB, Hata T, Miller J, et al. Cathelicidin, kallikrein 5 and serine protease activity is inhibited during treatment of rosacea with azelaic acids 15% gel. *J Am Acad Dermatol.* 2013; 69: 570-577. DOI: [10.1016/j.jaad.2013.05.019](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2013.05.019)
- Correa RM, et al. Distribution of human papillomavirus genotypes by severity of cervical lesions in HPV screened positive women from the ESTAMPA study in Latin America. *PLoS One.* 2022; 17(7): e0272205. doi: [10.1371/journal.pone.0272205](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0272205)
- Costache DO, Bejan H, Poenaru M, Costache RS. Skin Cancer Correlations in Psoriatic Patients. *Cancers (Basel).* 2023 Apr 25;15(9):2451. DOI: [10.3390/cancers15092451](https://doi.org/10.3390/cancers15092451)
- Crawford GH, Pelle MT, James WD. Rosacea: I. Etiology, pathogenesis, and subtype classification. *J Am Acad Dermatol.* 2004; 51: 327–341. DOI: [10.1016/j.jaad.2004.03.030](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2004.03.030)
- Davies J, Davies D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2010 Sep;74(3):417-33. DOI: [10.1128/MMBR.00016-10](https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10)
- De Sanjosé S, Quint WC, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol.* 2010 Nov;11(11):1048-56. DOI: [10.1016/S1470-2045\(10\)70230-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70230-8).
- Deshpande LM, Gales AC, Jones RN. GAR-936 (9-tbutyl-glycyl-amidomycin) susceptibility test development for streptococci, *Haemophilus influenzae* and *Neisseria gonorrhoeae*: preliminary guidelines and interpretive criteria. *Int J Antimicrob Agents.* 2001; 18:29–35. DOI: [10.1016/s0924-8579\(01\)00355-7](https://doi.org/10.1016/s0924-8579(01)00355-7)
- Devaki RN, Basavana Gowdappa H, Suma MN, et al. A study of C-reactive protein and its relationship with CHD and lipid metabolism. *Int J Pharm Sci Rev Res* 2011;6:125–7.
- Di Napoli M. Early inflammatory response in ischemic stroke. *Thromb Res.* 2001;103:261-4. DOI: [10.1016/s0049-3848\(01\)00290-0](https://doi.org/10.1016/s0049-3848(01)00290-0)
- Di Napoli M, Papa F, Bocola V. Prognostic influence of increased C-reactive protein and fibrinogen levels in ischemic stroke. *Stroke.* 2001; 32:133–138. DOI: [10.1161/01.str.32.1.133](https://doi.org/10.1161/01.str.32.1.133)
- Di Napoli M., Schwaninger M., Cappelli R., Ceccarelli E., Di Gianfilippo G., Donati C., et al. Evaluation of C-reactive protein measurement for assessing the risk and prognosis in ischemic stroke: a statement for health care professionals from the CRP Pooling Project members. *Stroke.* 2005;36:1316-29. DOI: [10.1161/01.STR.0000165929.78756.ed](https://doi.org/10.1161/01.STR.0000165929.78756.ed)

- Dillon JA, Trecker MA, Thakur SD. Gonococcal Antimicrobial Surveillance Program Network in Latin America and the Caribbean 1990–2011. Two decades of the gonococcal antimicrobial surveillance program in South America and the Caribbean: challenges and opportunities. *Sex Transm Infect.* 2013; 89(Suppl 4):iv36-iv41. DOI: [10.1136/sextrans-2012-050905](https://doi.org/10.1136/sextrans-2012-050905)
- Dommasch ED, Troxel AB, Gelfand JM. Major cardiovascular events associated with anti-IL 12/23 agents: a tale of two meta-analyses. *J Am Acad Dermatol.* 2013; 68(5): 863-5. DOI: [10.1016/j.jaad.2013.01.011](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2013.01.011)
- Dowell D, Kirkcaldy RD. Effectiveness of gentamicin for gonorrhoea treatment: systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Infect.* 2013;89:142–147. DOI: [10.1136/sextrans-2012-050604](https://doi.org/10.1136/sextrans-2012-050604)
- Dsouza PH, Kuruville M. Dyslipidemia in psoriasis: as a risk for cardiovascular disease. *Int J Res Med Sci.* 2013; 1(2): 53-57.
- Duman N, Ersoy Evans S, Atakan N. Rosacea and cardiovascular risk factors: a case control study. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2014; 28:1165–1169. DOI: [10.1111/jdv.12234](https://doi.org/10.1111/jdv.12234)
- Dyachenko P, Monselise A, Shustak A, Ziv M, Rozenman D. Nail disorders in patients with chronic renal failure and undergoing haemodialysis treatment: a casecontrol study. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2007;21:340-4. DOI: [10.1111/j.1468-3083.2006.01925.x](https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2006.01925.x)
- Easmon CS, Forster GE, Walker GD, et al. Spectinomycin as initial treatment for gonorrhoea. *Br Med J.* 1984; 289:1032–1034. DOI: [10.1136/bmj.289.6451.1032](https://doi.org/10.1136/bmj.289.6451.1032)
- Elewski BE, Draelos Z, Dreno B, et al.: Rosacea – global diversity and optimized outcome: proposed international consensus from the Rosacea International Expert Group. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011; 25: 188-200. DOI: [10.1111/j.1468-3083.2010.03751.x](https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2010.03751.x)
- Elewski EB, Sullivan J. Dermatophytes as opportunistic pathogens. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30(6): 1021–1022. DOI:[10.1016/s0190-9622\(09\)80146-1](https://doi.org/10.1016/s0190-9622(09)80146-1)
- Ena P, Madeddu P, Glorioso N, Cerimele D, Rappelli A. High prevalence of cardiovascular diseases and enhanced activity of the renin-angiotensin system in psoriatic patients. *Acta Cardiol.* 1985;40(2): 199–205.
- Evans EGV, Sigurgeirsson B. Double blind, randomized study of continuous terbinafine compared with intermittent itraconazole in the treatment of toenail onychomycosis. *Br Med J* 1999; 318: 1031–1035. DOI: [10.1136/bmj.318.7190.1031](https://doi.org/10.1136/bmj.318.7190.1031)
- Famenini S, Sako EY, Wu JJ. Effect of treating psoriasis on cardiovascular co-morbidities: focus on TNF inhibitors. *Am J Clin Dermatol.* 2014;15(1):45–50. DOI: [10.1007/s40257-013-0052-6](https://doi.org/10.1007/s40257-013-0052-6)
- Faridi, R., & Zahra, A. (2011). Oncogenic potential of Human Papillomavirus (HPV) and its relation with cervical cancer. *Virology J*, 8, 69. DOI: [10.1186/1743-422X-8-269](https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-269)
- Fassbender K, Rossol S, Kammer T, Daffertshofer M, Wirth S, Dollman M, et al. Proinflammatory cytokines in serum of patients with acute cerebral ischemia: kinetics of secretion and relation to the extent of brain damage and outcome of disease. *J Neurol Sci.* 1994;122:135–139. DOI: [10.1016/0022-510x\(94\)90289-5](https://doi.org/10.1016/0022-510x(94)90289-5)

- Fatani AJ, Al-Rejaie SS, Parmar MY, Ahmed OM, Abuohashish HM, Ahmed MM. Lutein attenuates diabetic-induced renal damage via inhibiting oxidative and nitrosative stresses. *Progr. Nutr.* 2017, 19, 57–66.
- Fatima N, Khalid S, Rasool N, Imran M, Parveen B, Kanwal A, **Irimie M**, Ciurea CI. Approachable Synthetic Methodologies for Second-Generation β -Lactamase Inhibitors: A Review. *Pharmaceuticals* 2024;17(9), 1108. ISSN 1424-8247. <https://www.mdpi.com/1424-8247/17/9/1108>
- Favre B, Hofbauer B, Hildering K, Ryder NS. Comparison of in vitro activities of 17 antifungal drugs against a panel of 20 dermatophytes by using a microdilution assay. *J Clin Microbiol.* 2003;41:4817–9. DOI: [10.1128/JCM.41.10.4817-4819.2003](https://doi.org/10.1128/JCM.41.10.4817-4819.2003)
- Feeney J, Finucane C, Savva GM, Cronin H, Beatty S, Nolan JM, Kenny RA. Low macular pigment optical density is associated with lower cognitive performance in a large, population-based sample of older adults. *Neurobiol. Aging* 2013 Nov;34(11):2449–56. DOI: [10.1016/j.neurobiolaging.2013.05.007](https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.05.007)
- Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer.* 2021; Apr 5. DOI: [10.1002/ijc.33588](https://doi.org/10.1002/ijc.33588).
- Fernández-Torres B, Cabañes FJ, Carrillo-Munóz AJ, Esteban A, Inza I, Abarca L, et al. Collaborative evaluation of optimal antifungal susceptibility testing condition for dermatophytes. *J Clin Microbiol.* 2002; 40:3999–4003. DOI: [10.1128/JCM.40.11.3999-4003.2002](https://doi.org/10.1128/JCM.40.11.3999-4003.2002)
- Fife KH, Cramer HM, Schroeder JM, Brown DR. Detection of multiple human papillomavirus types in the lower genital tract correlates with cervical dysplasia. *J Med Virol.* 2001 Aug;64(4):550–9. DOI: [10.1002/jmv.1085](https://doi.org/10.1002/jmv.1085)
- Forslund O, Antonsson A, Edlund K, van den Brule AJ, Hansson BG, Meijer CJ, et al. Population-based type-specific prevalence of high-risk human papillomavirus infection in middle-aged Swedish women. *J Med Virol.* 2002 Apr;66(4):535–41. DOI: [10.1002/jmv.2178](https://doi.org/10.1002/jmv.2178).
- Franceschi S, Herrero R, Clifford GM, Snijders PJF, Arslan A, Anh PTH, et al. Variations in the age-specific curves of human papillomavirus prevalence in women worldwide. *Int J Cancer.* 2006 Dec 1;119(11):2677–84. DOI: [10.1002/ijc.22241](https://doi.org/10.1002/ijc.22241)
- Fujimoto K, Takemoto K, Hatano K, et al. Novel carbapenem antibiotics for parenteral and oral applications: in vitro and in vivo activities of 2-aryl carbapenems and their pharmacokinetics in laboratory animals. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:697–707. DOI: [10.1128/AAC.01051-12](https://doi.org/10.1128/AAC.01051-12)
- Gavara L, Legru A, Verdirosa F, Seville L, Nauton L, et al. 4-Alkyl-1, 2,4-triazole-3-thione analogues as metallo- β -lactamase inhibitors. *Bioorganic Chem.* 2021, 113, 105024. DOI: [10.1016/j.bioorg.2021.105024](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105024)
- Ghannoum MA, Chatuverdi V, Espinel-Ingroff A, Pfaller MA, Rinaldi MG, Lee-Yang W, Warnock DW. Intra- and interlaboratory study of a method for testing the antifungal susceptibilities of dermatophytes. *J Clin Microbiol* 2004;42, 2977–2979. DOI: [10.1128/JCM.42.7.2977-2979.2004](https://doi.org/10.1128/JCM.42.7.2977-2979.2004)

- Ghayur MN, Khan H, Gilani AH. Antispasmodic, bronchodilator and vasodilator activities of (+)-catechin, a naturally occurring flavonoid. *Arch Pharm Res (Seoul)*. 2007;30(8):970-975. DOI: [10.1007/BF02993965](https://doi.org/10.1007/BF02993965)
- Gisondi P, Girolomoni G. Psoriasis and atherothrombotic diseases: disease-specific and non-disease-specific risk factors. *Semin Thromb Hemost* 2009;35:313–324. DOI: [10.1055/s-0029-1222610](https://doi.org/10.1055/s-0029-1222610)
- Golparian D, Fernandes P, Ohnishi M, et al. In vitro activity of the new fluoroketolide solithromycin (CEM-101) against a large collection of clinical *Neisseria gonorrhoeae* isolates and international reference strains including those with various high-level antimicrobial resistance - potential treatment option for gonorrhoea? *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:2739–2742. DOI: [10.1128/AAC.00036-12](https://doi.org/10.1128/AAC.00036-12)
- Granado F, Olmedilla B, Blanco I. Nutritional and clinical relevance of lutein in human health. *Br J Nutr*. 2003 Sep;90(3):487–502. DOI: [10.1079/bjn2003927](https://doi.org/10.1079/bjn2003927)
- Gransden WR, Warren CA, Phillips I, et al. Decreased susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* to ciprofloxacin. *Lancet* 1990; 335:51. DOI: [10.1016/0140-6736\(90\)90177-7](https://doi.org/10.1016/0140-6736(90)90177-7)
- Gravina A, Federico A, Ruocco E, et al. *Helicobacter pylori* infection but not small intestinal bacterial overgrowth may play a pathogenic role in rosacea. *United European Gastroenterol J*. 2015;3:17–24. DOI: [10.1177/2050640614559262](https://doi.org/10.1177/2050640614559262)
- Grozdev I, Korman N, Tsankov N. Psoriasis as a systemic disease. *Clin Dermatol*. 2014 May-Jun;32(3):343–50. DOI: [10.1016/j.clindermatol.2013.11.001](https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2013.11.001)
- Gunstad J, Bausserman L, Paul RH, Tate DF, Hoth K, Poppas A, et al. C-reactive protein, but not homocysteine, is related to cognitive dysfunction in older adults with cardiovascular disease. *J Clin Neurosci*. 2006;13:540–6. DOI: [10.1016/j.jocn.2005.08.010](https://doi.org/10.1016/j.jocn.2005.08.010)
- Gupta AK, Kohli Y. In vitro susceptibility testing of ciclopirox, terbinafine, ketoconazole and itraconazole against dermatophytes and nondermatophytes, and in vitro evaluation of combination antifungal activity. *Br J Dermatol* 2003; 149: 296–305. DOI: [10.1046/j.1365-2133.2003.05418.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.2003.05418.x)
- Guzik B, Berry C, Touyz RM, Kreutz R, Wang DW, McInnes IB. COVID-19 and the cardiovascular system: Implications for risk assessment, diagnosis, and treatment options. *Cardiovasc Res*. 2020 Aug 1;116(10):1666–1687. DOI: [10.1093/cvr/cvaa106](https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa106)
- Hammond BR, Wooten BR. CFF Thresholds: Relation to macular pigment optical density. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2005 Jul;25(4):315–9. DOI: [10.1111/j.1475-1313.2005.00271.x](https://doi.org/10.1111/j.1475-1313.2005.00271.x)
- He M, Min JW, Kong WL, He XH, Li JX, Peng BW. A review on the pharmacological effects of vitexin and isovitexin. *Fitoterapia*. 2016; 115, 74–85. DOI: [10.1016/j.fitote.2016.09.011](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.09.011)
- Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, Hutchinson M, Morales J, et al. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst*. 2000 Mar 15;92(6):464–74. DOI: [10.1093/jnci/92.6.464](https://doi.org/10.1093/jnci/92.6.464)
- Horner PJ, Martin DH. Mycoplasma genitalium Infection in Men. *J Infect Dis*. 2017 Jul 15;216(suppl_2):S396–S405. DOI: [10.1093/infdis/jix145](https://doi.org/10.1093/infdis/jix145)

- Hua TC, Chung PI, Chen YJ, Wu LC, Chen YD, Hwang CY, et al. Cardiovascular comorbidities in patients with rosacea: A nationwide case-control study from Taiwan. *J Am Acad Dermatol*. 2015 Aug;73(2):249-54. DOI: [10.1016/j.jaad.2015.04.028](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2015.04.028)
- Hugh J, Van Voorhees AS, Nijhawan RI, Bagel J, Lebwohl M, Blauvelt A, et al. From the Medical Board of the National Psoriasis Foundation: The risk of cardiovascular disease in individuals with psoriasis and the potential impact of current therapies. *J Am Acad Dermatol*. 2014; 70(1): 168-77. DOI: [10.1016/j.jaad.2013.09.020](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2013.09.020)
- Ijaz MU, Tahir A, Ahmed H, Ashraf A, Ahmedah HT, Muntean L, Moga M, Irimie M. Chemoprotective effect of vitexin against cisplatin-induced biochemical, spermatological, steroidogenic, hormonal, apoptotic and histopathological damages in the testes of Sprague-Dawley rats. *Saudi Pharm J*. 2022 May;30(5):519-526. DOI: [10.1016/j.jsps.2022.03.001](https://doi.org/10.1016/j.jsps.2022.03.001)
- Irimie CA, Vârciu M, Irimie M, Ifteni PI, Minea DI. C-reactive protein and T3: new prognostic factors in acute ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2018 Oct;27(10):2731-2737. DOI: [10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.05.047](https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.05.047)
- Irimie M. Gonoreea – o boală netratabilă în viitor? *Jurnalul Medical Braşovean*. 2017; 1;4-10. <https://webbut.unitbv.ro/index.php/jmb/article/view/3382/2692>
- Irimie M. Risk Factors and Aetiological Agents of Urethritis in Men with Urethritis in Braşov County. *Bulletin of the Transilvania University of Brasov, Series VI: Medical Sciences* 2020; vol. 13 (63) No. 2: 37-42. <https://doi.org/10.31926/but.ms.2020.62.13.2.5>
- Irimie M, Oanță A, Irimie CA, Fekete LG, Minea DI, Pascu A. Cardiovascular Risk Factors in Patients with Chronic Plaque Psoriasis: A Case-control Study on the Brasov County Population. *Acta Dermatovenerol Croat*. 2015 Apr;23(1):28-35. <http://adc.mef.hr/index.php/adc/article/view/1527>
- Irimie M, Oanță A, Irimie CA, Minea DI. Prevalence and Antifungal Susceptibility Patterns of Dermatophytes Isolated from Patients with Neoplastic Diseases: A Case Control Study. *Acta Dermatovenerol Croat*. 2015;23(2):108-113. <http://adc.mef.hr/index.php/adc/article/view/1636/814>.
- Irimie M, Oanță A, Tătaru A. Infecțiile dermatofitice în diabetul zaharat: prevalență, diagnostic și tratament. *Jurnalul Medical Braşovean* 2010;2:4-10. Editura Universității Transilvania Braşov, Romania, ISSN 1841-0782.
- Irimie M, Oanță A, Moga M. In vitro susceptibility of dermatophytes isolated from patients with end-stage renal disease: a case-control study. *Mycoses*. 2014 Mar; 57(3): 129-34. DOI:[10.1111/myc.12114](https://doi.org/10.1111/myc.12114)
- Jessup CJ, Warner J, Isham N et al. Antifungal susceptibility testing of dermatophytes: establishing a medium for inducing conidial growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 341-4. DOI: [10.1128/JCM.38.1.341-344.2000](https://doi.org/10.1128/JCM.38.1.341-344.2000)
- Jiang M, Wang Q, Chen J, Wang Y, Fan G, Zhu Y. Comparative metabolomics of Wenxin Keli and Verapamil reveals differential roles of gluconeogenesis and fatty acid β -oxidation in myocardial injury protection. *Sci. Rep.* 2017; 7, 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09547-w>.

- Kamil M, Fatima A, Ullah S, Ali G, Khan R, Ismail N, Qayum M, Irimie M, Dinu CG, Ahmedah HT, Cocuz ME. Toxicological Evaluation of Novel Cyclohexenone Derivative in an Animal Model through Histopathological and Biochemical Techniques. *Toxics*. 2021 May 25;9(6):119. DOI: [10.3390/toxics9060119](https://doi.org/10.3390/toxics9060119)
- Kampmeier RH. Introduction of sulfonamide therapy for gonorrhoea. *Sex Transm Dis*. 1983;10:81–84. DOI: [10.1097/00007435-198304000-00007](https://doi.org/10.1097/00007435-198304000-00007)
- Kendall SN. Remission of rosacea induced by reduction of gut transit time. *Clin Exp Dermatol*. 2004; 29:297-299. DOI: [10.1111/j.1365-2230.2004.01461.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2230.2004.01461.x)
- Kerstein K, Fyfe C, Sutcliffe JA, et al. Eravacycline (TP-434) is active against susceptible and multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae*, poster E-1181. 53rd Annu Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother., 10 to 13 September 2013, Denver, CO.
- Khder AK, Muhammed SA. Potential of Aqueous and Alcohol Extracts of *Quercus infectoria*, *Linum usitatissimum* and *Cinnamomum zeylanicum* as Antimicrobials and Curing of Antibiotic Resistance in *E. coli*. *Curr. Res. J. Biol. Sci*. 2010, 2, 333–337.
- Kim JE, Lee MR, Park JJ, et al. Quercetin promotes gastrointestinal motility and mucin secretion in loperamide-induced constipation of SD rats through regulation of the mAChRs downstream signal. *Pharmaceut Biol*. 2018;56(1):309-317. DOI: [10.1080/13880209.2018.1474932](https://doi.org/10.1080/13880209.2018.1474932)
- Kim JM, Araki S, Kim DJ, Park CB, Takasuka N, Baba-Toriyama H, Ota T, Nir Z, et al. Chemopreventive effects of carotenoids and curcumins on mouse colon carcinogenesis after 1,2-dimethylhydrazine initiation. *Carcinogenesis*. 1998 Jan;19(1):81-5. DOI: [10.1093/carcin/19.1.81](https://doi.org/10.1093/carcin/19.1.81)
- Kirkcaldy RD. Treatment of gonorrhoea in an era of emerging cephalosporin resistance and results of a randomized trial of new potential treatment options, abstr S08.1. STI AIDS World Cong. 2013, 14 to 17 July 2013, Vienna, Austria.
- Koeth LM, Fisher J. In vitro activity of dalbavancin against *Neisseria gonorrhoeae* and development of a broth microdilution method, poster 255. IDWeek 2013, 2 to 6 October 2013, San Francisco, CA.
- Krinsky NI, Johnson EJ. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Mol Aspects Med*. 2005 Dec;26(6):459-516. DOI: [10.1016/j.mam.2005.10.001](https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.10.001)
- Kuvandik G, Cetin M, Genctoy G, Horoz M, Duru M, et al. The prevalence, epidemiology and risk factors for onychomycosis in hemodialysis patients. *BMC Infect Dis*. 2007 Aug 30;7:102. DOI: [10.1186/1471-2334-7-102](https://doi.org/10.1186/1471-2334-7-102)
- Lakshmi S, Nath AK, Udayashankar C. Metabolic syndrome in patients with psoriasis: A comparative study. *Indian Dermatol Online J*. 2014 Apr;5(2):132-7. DOI: [10.4103/2229-5178.131080](https://doi.org/10.4103/2229-5178.131080)
- Landrum JT, Bone RA. Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. *Arch. Biochem. Biophys*. 2001 Jan 1;385(1):28-40. DOI: [10.1006/abbi.2000.2171](https://doi.org/10.1006/abbi.2000.2171)
- Langley RG, Krueger GG, Griffiths CE. Psoriasis: epidemiology, clinical features, and quality of life. *Ann Rheum Dis*. 2005; 64(suppl): ii18-ii23. DOI: [10.1136/ard.2004.033217](https://doi.org/10.1136/ard.2004.033217)

- Lee H, Kim H, Seo YH, et al. In vitro activity of tigecycline alone and antimicrobial combinations against clinical *Neisseria gonorrhoeae* isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2017; 87(2):160-162. DOI: [10.1016/j.diagmicrobio.2016.10.022](https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.10.022)
- Lee EH, Um TH, Chi HS, Hong YJ, Cha YJ. Prevalence and distribution of human papillomavirus infection in Korean women as determined by restriction fragment mass polymorphism assay. *J Korean Med Sci*. 2012 Sep;27(9):1091-7. DOI: [10.3346/jkms.2012.27.9.1091](https://doi.org/10.3346/jkms.2012.27.9.1091)
- Li R, Turner SD, Brautigan DL. Xanthophylls lutein and zeaxanthin modify gene expression and induce synthesis of hyaluronan in keratinocyte model of human skin. *Biochem Biophys Res*. 2015 Aug 21;4:52-58. DOI: [10.1016/j.bbrep.2015.08.012](https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2015.08.012)
- Li SY. Global transmission of multiple-drug resistant *Neisseria gonorrhoeae* strains refractive to cephalosporin treatment. *J Formos Med Assoc*. 2012;111:463-464. DOI: [10.1016/j.jfma.2012.03.004](https://doi.org/10.1016/j.jfma.2012.03.004)
- Li Y, Begovich AB. Unraveling the genetics of complex diseases: susceptibility genes for rheumatoid arthritis and psoriasis. *Semin Immunol*. 2009; 21(6): 318-27. DOI: [10.1016/j.smim.2009.04.002](https://doi.org/10.1016/j.smim.2009.04.002)
- Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuffi AG, Pepys MB, et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. *N Engl J Med*. 1994;331: 417-424. DOI: [10.1056/NEJM199408183310701](https://doi.org/10.1056/NEJM199408183310701)
- Lundin AP, Fani K, Berlyne GM, Friedman EA. Dermal angiopathy in hemodialysis patients: the effect of the time. *Kidney Int* 1995; 47:1775-1780. DOI: [10.1038/ki.1995.245](https://doi.org/10.1038/ki.1995.245)
- Madjid M, Willerson JT. Inflammatory markers in coronary heart disease. *Br Med Bull* 2011;100:23-38. DOI: [10.1093/bmb/ldr043](https://doi.org/10.1093/bmb/ldr043)
- Magagnin CM, Stopiglia CD, Vieira FJ, Heidrich D, Machado M, Vetoratto G, Lamb FM, Scroferneker ML. Antifungal susceptibility of dermatophytes isolated from patients with chronic renal failure. *An Bras Dermatol*. 2011 Aug;86(4):694-701. DOI: [10.1590/s0365-05962011000400011](https://doi.org/10.1590/s0365-05962011000400011)
- Mahmassani HA, Switkowski KM, Scott TM, Johnson EJ, Rifas-Shiman SL, Oken E, Jacques PF. Maternal Intake of Lutein and Zeaxanthin during Pregnancy Is Positively Associated with Offspring Verbal Intelligence and Behavior Regulation in Mid-Childhood in the Project Viva Cohort. *J Nutr*. 2021 Mar 11;151(3):615-627. DOI: [10.1093/jn/nxaa348](https://doi.org/10.1093/jn/nxaa348)
- Mallbris L, Akre O, Granath F, Yin L, Lindelöf B, Ekbom A, et al. Increased risk for cardiovascular mortality in psoriasis inpatients but not in outpatients. *Eur J Epidemiol*. 2004; 19: 225-230. DOI: [10.1023/b:ejep.0000020447.59150.f9](https://doi.org/10.1023/b:ejep.0000020447.59150.f9)
- Mallbris L, Granath F, Hamsten A, Stahle M. Psoriasis is associated with lipid abnormalities at the onset of skin disease. *J Am Acad Dermatol* 2006;54:614-21. DOI: [10.1016/j.jaad.2005.11.1079](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2005.11.1079)
- Mallbris L, Ritchlin CT, Stahle M. Metabolic disorders in patients with psoriasis and psoriatic arthritis. *Curr Rheumatol Rep*. 2006; 8: 355-363. DOI: [10.1007/s11926-006-0065-8](https://doi.org/10.1007/s11926-006-0065-8)
- Mandelblatt JS, Lawrence WF, Womack SM, et al. Benefits and costs of using HPV testing to screen for cervical cancer. *JAMA*. 2002 May 8;287(18):2372-81. DOI: [10.1001/jama.287.18.2372](https://doi.org/10.1001/jama.287.18.2372)

- Maoka T. Recent progress in structural studies of carotenoids in animals and plants. *Arch. Biochem. Biophys.* 2009, 483, 191–195. DOI: [10.1016/j.abb.2008.10.019](https://doi.org/10.1016/j.abb.2008.10.019)
- Masia G, Mazzoleni AP, Contu G, Laconi S, Minerba L, Montixi S, *et al.* Epidemiology and genotype distribution of human papillomavirus (HPV) in women of Sardinia (Italy). *Vaccine* 2009;29:27 Suppl 1:A11-6. DOI: [10.1016/j.vaccine.2008.10.095](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.10.095)
- Mays SR, Bogle MA, Bodey GP. Cutaneous fungal infections in the oncology patient. Recognition and management. *Am J Clin Dermatol* 2006; 7: 31–43. DOI: [10.2165/00128071-200607010-00004](https://doi.org/10.2165/00128071-200607010-00004)
- McDonald I, Connolly M, Tobin AM. A review of psoriasis, a known risk factor for cardiovascular disease and its impact on folate and homocysteine metabolism. *J Nutr Metab.* 2012; 2012: 965385. DOI: [10.1155/2012/965385](https://doi.org/10.1155/2012/965385)
- Mehta NN, Yu Y, Pinnelas R, *et al.* Attributable risk estimate of severe psoriasis on major cardiovascular events. *Am J Med.* 2011;124(8):775.e1–e6. DOI: [10.1016/j.amjmed.2011.03.028](https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2011.03.028)
- Meijer CJ, Snijders PJ, Castle PE. Clinical utility of HPV genotyping. *Gynecol Oncol.* 2006 Oct;103(1):12-7. DOI: [10.1016/j.ygyno.2006.07.031](https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2006.07.031)
- Moi H, Blee K, Horner PJ. Management of non-gonococcal urethritis. *BMC Infect Dis.* 2015 Jul 29;15:294. DOI: [10.1186/s12879-015-1043-4](https://doi.org/10.1186/s12879-015-1043-4)
- Moga MA, Irimie M, Oanță A, Pascu A, Burtea V. Type-specific Prevalence of Human Papillomavirus by Cervical Cytology among Women in Brasov, Romania. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014; 15(16): 6887–92. DOI: [10.7314/apjcp.2014.15.16.6887](https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.16.6887)
- Montaner J, Alvarez-Sabin J, Barbera G, Angles A, Molina C, Abilleira S, *et al.* Correlation between the expression of proinflammatory cytokines and matrix metalloproteinase in the acute phase of an ischemic stroke. *Rev Neurol.* 2001;33:115–118.
- Munoz N, Mendez F, Posso H, Molano M, van den Brule AJ, Ronderos M, *et al.* Incidence, duration, and determinants of cervical human papillomavirus infection in a cohort of Colombian women with normal cytological results. *J Infect Dis.* 2004 Dec 15;190(12):2077–87. DOI: [10.1086/425907](https://doi.org/10.1086/425907)
- Mushtaq A, Anwar R, Gohar UF, Ahmad M, Marc Vlaic RA, Mureșan CC, Irimie M, Bobescu E. Biomolecular Evaluation of *Lavandula stoechas* L. for Nootropic Activity. *Plants (Basel).* 2021 Jun 21;10(6):1259. DOI: [10.3390/plants10061259](https://doi.org/10.3390/plants10061259)
- Naldi L, Chatenoud L, Linder D, Belloni Fortina A, Peserico A, Virgili AR, *et al.* Cigarette smoking, body mass index, and stressful life events as risk factors for psoriasis: results from an Italian case-control study. *J Investig Dermatol* 2005; 125(1): 61–67. DOI: [10.1111/j.0022-202X.2005.23681.x](https://doi.org/10.1111/j.0022-202X.2005.23681.x)
- Nayeem N, Asdaq SMB, Salem H, AHEI-Alfay S. Gallic acid: a promising lead molecule for drug development. *J Appl Pharmacol.* 2016;8(2):1–4.
- Neidert S, Katan M, Schuetz P, Fluri F, Ernst A, Bingisser R, *et al.* Anterior pituitary axis hormones and outcome in acute ischaemic stroke. *J Intern Med.* 2011 Apr;269(4):420–32. DOI: [10.1111/j.1365-2796.2010.02327.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2010.02327.x)

- Neimann AL, Shin DB, Wang X, Margolis DJ, Troxel AB, Gelfand JM. Prevalence of cardiovascular risk factors in patients with psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 2006; 55: 829–835. DOI: [10.1016/j.jaad.2006.08.040](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2006.08.040)
- Newman LM, Moran JS, Workowski KA. Update on the management of gonorrhea in adults in the United States. *Clin Infect Dis*. 2007; 44(Suppl 3):S84–S101. DOI: [10.1086/511422](https://doi.org/10.1086/511422)
- Ni C, Chiu MW. Psoriasis and comorbidities: links and risks. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2014;7:119–32. DOI: [10.2147/CCID.S44843](https://doi.org/10.2147/CCID.S44843)
- Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, et al. Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhea? Detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:3538–3545. DOI: [10.1128/AAC.00325-11](https://doi.org/10.1128/AAC.00325-11)
- Olmedilla B, Granado F, Blanco I, Herrero C, Vaquero M, Millan I. Serum status of carotenoids and tocopherols in patients with age-related cataracts: A case-control study. *J Nutr Health Aging*. 2002;6(1):66–8.
- Odom RB. Common superficial fungal infections in immunosuppressed patients. *J Am Acad Dermatol* 1994; 31: S56–S59. DOI:[10.1016/s0190-9622\(08\)81269-8](https://doi.org/10.1016/s0190-9622(08)81269-8)
- Phillips I. Beta-lactamase producing penicillin-resistant gonococcus. *Lancet* 1976;ii:656–657. DOI: [10.1016/s0140-6736\(76\)92466-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(76)92466-1)
- Piérard GE, Arrese JE, Piérard-Franchimont C, Quatresooz P. Onychomycosis in older patients. *Aging Health* 2006; 2:865–870. <https://doi.org/10.2217/1745509X.2.5.865>
- Piérard GE, Piérard-Franchimont C. The nail under fungal siege in patients with type II diabetes mellitus. *Mycoses* 2005;48: 339–342. DOI: [10.1111/j.1439-0507.2005.01140.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2005.01140.x)
- Piérard GE, Quatresooz P, Arrese JE. Spotlight on nail histomycology. *Dermatol Clin* 2006; 24: 371–374. DOI: [10.1016/j.det.2006.03.013](https://doi.org/10.1016/j.det.2006.03.013)
- Piérard-Franchimont C, Arrese JE, Hermanns-Lê T, Piérard GE. Epidemiology of onychomycosis assessed by histomycology in psoriatic patients. *J Mycol Med* 2006; 16:159–162. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2006.06.001>
- Pirro M, Stingeni L, Vaudo G, Mannarino MR, Ministrini S, Vonella M, et al. Systemic inflammation and imbalance between endothelial injury and repair in patients with psoriasis are associated with preclinical atherosclerosis. *Eur J Prev Cardiol*. 2015;22(8):1027–35. DOI: [10.1177/2047487314538858](https://doi.org/10.1177/2047487314538858)
- Prescott JF. The resistance tsunami, antimicrobial stewardship, and the golden age of microbiology. *Vet Microbiol*. 2014; 16;171(3-4):273–8. DOI: [10.1016/j.vetmic.2014.02.035](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.02.035)
- Prodanovich S, Kirsner RS, Kravetz JD, Ma F, Martinez L, Federman DG. Association of psoriasis with coronary artery, cerebrovascular, and peripheral vascular diseases and mortality. *Arch Dermatol*. 2009;145(6):700–703. DOI: [10.1001/archdermatol.2009.94](https://doi.org/10.1001/archdermatol.2009.94)
- Quatresooz P, Piérard-Franchimont C, Arrese JE, Piérard GE. Clinicopathologic presentations of dermatomycoses in cancer patients. *JEADV* 2008;22:907–917. DOI: [10.1111/j.1468-3083.2008.02774.x](https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2008.02774.x)

- Raihana ARN, Marikkar JMN, Amin I, Shuhaimi M. A review on food values of selected tropical fruits seeds. *Int. J. Food Prop.* 2015; 18, 2380–2392. <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.980946>.
- Reich K. The concept of psoriasis as a systemic inflammation: implications for disease management. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2012 Mar;26 Suppl 2:3-11. DOI: [10.1111/j.1468-3083.2011.04410.x](https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2011.04410.x)
- Reinholz M, Tietze J, Kilian K et al.: Rosacea – S1 Guideline. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2013; 11: 768-780. DOI: [10.1111/ddg.12101](https://doi.org/10.1111/ddg.12101)
- Richardson D, Lewis DA, Jeffreys NJ, Couldwell DL. Mycoplasma genitalium coinfection in men with symptomatic gonococcal urethritis. *Sex Transm Infect.* 2021 Aug;97(5):363-367. DOI: [10.1136/sextrans-2020-054529](https://doi.org/10.1136/sextrans-2020-054529)
- Roberts DT, Taylor WD, Boyle J. Guidelines for treatment of onychomycosis. *Br J Dermatol.* 2003;148:402–10. DOI: [10.1046/j.1365-2133.2003.05242.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.2003.05242.x)
- Roberts MC, Remy JM, Longcor JD, et al. In vitro activity of delafloxacin against Neisseria gonorrhoeae clinical isolates, poster P2.197. STI AIDS World Cong. 2013, 14 to 17 July 2013, Vienna, Austria.
- Romiti R, Jansen T, Heldwein W, et al. Rosacea fulminans in a patient with Crohn’s disease: a case report and review of the literature. *Acta Derm Venereol.* 2000;80:127-129.
- Ronti T, Lupattelli G, Mannarino E. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2006 Apr;64(4):355-65. DOI: [10.1111/j.1365-2265.2006.02474.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2006.02474.x)
- Rothwell NJ, Relton JK. Involvement of cytokines in acute neurodegeneration in the CNS. *Neurosci Biobehav Rev.* 1993 Summer;17(2):217-27. DOI: [10.1016/s0149-7634\(05\)80152-6](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(05)80152-6)
- Saqib F, Al-Huqail AA, Asma M, Chicea L, Hogeia M, **Irimie M**, Gavris C. Dose-dependent Spasmolytic, Bronchodilator, and Hypotensive Activities of Panicum miliaceum L. *Dose Response.* 2022 Mar 27;20(1):15593258221079592. DOI: [10.1177/15593258221079592](https://doi.org/10.1177/15593258221079592)
- Saqib F, Ali A, Ahmedah HT, Irimie CA, Toma SI, Popovici BE, Moga M, **Irimie M**. Cardioprotective, hypotensive and toxicological studies of Populus ciliata (Wall. ex Royle). *Biomed Pharmacother.* 2021 Oct;142:112065. DOI: [10.1016/j.biopha.2021.112065](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112065)
- Saqib F, Wahid M, Al-Huqail AA, Ahmedah HT, Bîgiu N, **Irimie M**, Moga M, Marc Vlaic RA, Pop OL, Chicea LM. Metabolomics based mechanistic insights to vasorelaxant and cardioprotective effect of ethanolic extract of Citrullus lanatus (Thunb.) Matsum. & Nakai. seeds in isoproterenol induced myocardial infraction. *Phytomedicine.* 2022 Jun;100:154069. DOI: [10.1016/j.phymed.2022.154069](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154069)
- Savoia D. Plant-derived antimicrobial compounds: Alternatives to antibiotics. *Future Microbiol.* 2012 Aug;7(8):979-90. DOI: [10.2217/fmb.12.68](https://doi.org/10.2217/fmb.12.68)
- Schauber J, Gallo RL. Antimicrobial peptides and the skin immune defense system. *J Allergy Clin Immunol.* 2009; 124: 13-18. DOI: [10.1016/j.jaci.2009.07.014](https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.07.014)

- Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J, Ferreira S, Santos M, Miyamura RA, *et al.* Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA*. 2001 Dec 26;286(24):3106–14. DOI: [10.1001/jama.286.24.3106](https://doi.org/10.1001/jama.286.24.3106)
- Schön MP. Adaptive and Innate Immunity in Psoriasis and Other Inflammatory Disorders. *Front Immunol*. 2019 Jul 26;10:1764. DOI: [10.3389/fimmu.2019.01764](https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01764)
- Shaharyar S, Warraich H, McEvoy JW, Oni E, Ali SS, Karim A, *et al.* Subclinical cardiovascular disease in plaque psoriasis: association or causal link? *Atherosclerosis*. 2014; 232(1): 72–8. DOI: [10.1016/j.atherosclerosis.2013.10.023](https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2013.10.023)
- Shapiro LH, Lentz JW. Kanamycin as treatment of acute gonorrhea in females. *Obstet Gynecol*. 1970; 35(5):794–6.
- Shendkar CD, Chandrachood PS, Pawar AB, Lavate SM, Deshpande NR. Quantitative estimation of macro, micro nutrients and trace elements by X-ray fluorescence spectroscopy (XRF) from *Achyranthes aspera* Linn. *Int. J. Chem. Tech. Res*. 2011, 9630, 610–613.
- Sivasankari B, Anandharaj M, Gunasekaran P. An ethnobotanical study of indigenous knowledge on medicinal plants used by the village peoples of Thoppampatti, Dindigul district, Tamilnadu, India. *J Ethnopharmacol*. 2014;153(2):408–423. DOI: [10.1016/j.jep.2014.02.040](https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.02.040)
- Slattery ML, Benson J, Curtin K, Ma K, Schaeffer D, Potte RJD. Carotenoids and colon cancer. *Am J Clin Nutr*. 2000 Feb;71(2):575–82. DOI: [10.1093/ajcn/71.2.575](https://doi.org/10.1093/ajcn/71.2.575)
- Smith JS, Melendy A, Rana RK, Pimenta JM. Age-Specific Prevalence of Infection with Human Papillomavirus in Females: A Global Review. *J Adolesc Health*. 2008 Oct;43(4 Suppl):S5–25, S25.e1–41. DOI: [10.1016/j.jadohealth.2008.07.009](https://doi.org/10.1016/j.jadohealth.2008.07.009)
- Snijders PJ, Steenberg RD, Heideman DA, Meijer CJ. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J Pathol*. 2006 Jan;208(2):152–64. DOI: [10.1002/path.1866](https://doi.org/10.1002/path.1866)
- Spiteri G, Cole M, Unemo M, *et al.* The European Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme (Euro-GASP) - a sentinel approach in the European Union (EU)/European Economic Area (EEA). *Sex Transm Infect*. 2013; 89(Suppl 4):iv16–iv18. DOI: [10.1136/sextrans-2013-051117](https://doi.org/10.1136/sextrans-2013-051117)
- Spoendlin J, Bichsel F, Voegel JJ, *et al.* The association between psychiatric diseases, psychotropic drugs and the risk of incident rosacea. *Br J Dermatol*. 2014;170:878–883. DOI: [10.1111/bjd.12734](https://doi.org/10.1111/bjd.12734)
- Spoendlin J, Voegel JJ, Jick SS, *et al.* A study on the epidemiology of rosacea in the U.K. *Br J Dermatol*. 2012; 167:598–605. DOI: [10.1111/j.1365-2133.2012.11037.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2012.11037.x)
- Stahl W, Seis H. Effects of carotenoids and retinoids on gap junctional communication. *Biofactors* 2001;15(2–4):95–8. DOI: [10.1002/biof.5520150209](https://doi.org/10.1002/biof.5520150209)
- Stanley M. Immune responses to human papillomavirus. *Vaccine*. 2006 Mar 30;24 Suppl 1:S16–22. DOI: [10.1016/j.vaccine.2005.09.002](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.09.002)
- Starnino S, GASP-LAC Working Group, Galarza P, *et al.* Retrospective analysis of antimicrobial susceptibility trends (2000–2009) in *Neisseria gonorrhoeae* isolates from countries in Latin America and the Caribbean show evolving resistance to ciprofloxacin, azithromycin and

- decreased susceptibility to ceftriaxone. *Sex Transm Dis.* 2012; 39:813–821. DOI: [10.1097/OLQ.0b013e3182631c9f](https://doi.org/10.1097/OLQ.0b013e3182631c9f)
- Swedberg G, Fermér C, Sköld O. Point mutations in the dihydropteroate synthase gene causing sulfonamide resistance. *Adv Exp Med Biol.* 1993;338:555–558. DOI: [10.1007/978-1-4615-2960-6_113](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2960-6_113)
- Tabor A, Blair R. *Nutritional Cosmetics: Beauty from within*; William Andrew: Norwich, NY, USA, 2009; pp. 185–198.
- Tanaka M, Nakayama H, Haraoka M, et al. Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* and high prevalence of ciprofloxacin-resistant isolates in Japan, 1993 to 1998. *J Clin Microbiol.* 2000;38:521–525. DOI: [10.1128/JCM.38.2.521-525.2000](https://doi.org/10.1128/JCM.38.2.521-525.2000)
- Tercedor J, Lopez Hernandez B, Manuel rodenas J: Nail diseases in haemodialysis patients: case-control study. *Br J Dermatol* 2001,144:445-446. DOI: [10.1046/j.1365-2133.2001.04062.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.2001.04062.x)
- Terris MK. *Urethritis*. <https://emedicine.medscape.com/article/438091-overview#a5>. on line, Accessed 06 June 2020.
- Terruzzi A, Valente L, Mariani R, Moschini L, Camerlingo M. C-reactive protein and aetiological subtypes of cerebral infarction. *Neurol Sci.* 2008 Sep;29(4):245-9. DOI: [10.1007/s10072-008-0975-5](https://doi.org/10.1007/s10072-008-0975-5)
- Tooke CL, Hinchliffe P, Bragginton EC, Colenso CK, Hirvonen VH, Takebayashi Y, Spencer J. β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *J. Mol. Biol.* 2019, 431, 3472–3500. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.002>
- Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine* 2006;24(Suppl 1):S4–S15. DOI: [10.1016/j.vaccine.2005.09.054](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.09.054)
- Unemo M, Golparian D, Syversen G, et al. Two cases of verified clinical failures using internationally recommended first-line cefixime for gonorrhoea treatment, Norway, 2010. *Euro Surveill.* 2010;15:19721. DOI: [10.2807/ese.15.47.19721-en](https://doi.org/10.2807/ese.15.47.19721-en)
- Unemo M, Nicholas RA. Emergence of multidrug-resistant, extensively drug-resistant and untreatable gonorrhoea. *Future Microbiol.* 2012;7:1401–1422. DOI: [10.2217/fmb.12.117](https://doi.org/10.2217/fmb.12.117)
- Unemo M, Shafer WM. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the 21st century: past, evolution, and future. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(3):587-613. DOI: [10.1128/CMR.00010-14](https://doi.org/10.1128/CMR.00010-14)
- Uyanik BS, Ariz OE, Gunduz K, Tanulka A, Durkan K. Serum lipids and apolipoproteins in patients with psoriasis. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 65-8. DOI: [10.1515/CCLM.2002.013](https://doi.org/10.1515/CCLM.2002.013)
- Vázquez-Ucha JC, Arca-Suárez J, Bou G, Beceiro A. New carbapenemase inhibitors: Clearing the way for the β -lactams. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 9308. <https://doi.org/10.3390/ijms21239308>
- Veena S, Premraj S, Narotam S, Pracheta, Ritu P. Study of epidemiology of HPV infection in the Uterine Cervix of Women's in Delhi /NCR regions, India. *International Journal of Drug Development and Research* 2012; 4(1):311-315.
- Ventola CL. The antibiotic resistance crisis: Part 1: Causes and threats. *Pharm. Ther.* 2015, 40, 277. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378521/>

- Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, *et al.* Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999 Sep;189(1):12-9. DOI: [10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199909\)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199909)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F)
- Walsh TJ, De Pauw B, Anaissie E, Martino P. Recent advances in the epidemiology, prevention and treatment of invasive fungal infections in neutropenic patients. *J Med Vet Mycol* 1994; 32: S33–S51. DOI: [10.1080/02681219480000711](https://doi.org/10.1080/02681219480000711)
- Walston J, Xue Q, Semba RD, Ferrucci L, Cappola AR, Ricks M, Guralnik J, Fried LP. Serum antioxidants, inflammation, and total mortality in older women. *Am J Epidemiol.* 2006 Jan 1;163(1):18-26. DOI: [10.1093/aje/kwj007](https://doi.org/10.1093/aje/kwj007)
- Weinstock H, Berman S, Caces Jr W. Sexually transmitted diseases among American youth: incidence and prevalence estimates, 2000. *Perspect Sex Reprod Health.* 2004 Jan-Feb;36(1):6-10. DOI: [10.1363/psrh.36.6.04](https://doi.org/10.1363/psrh.36.6.04)
- Wind CM, Schim van der Loeff MF, van Dam AP, *et al.* Trends in antimicrobial susceptibility for azithromycin and ceftriaxone in *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Amsterdam, the Netherlands, between 2012 and 2015. *Euro Surveill.* 2017;5;22(1). pii: 30431. DOI: [10.2807/1560-7917.ES.2017.22.1.30431](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.1.30431)
- Wolf N, Quaranta M, Prescott NJ, Allen M, Smith R, Burden AD, *et al.* Psoriasis is associated with pleiotropic susceptibility loci identified in type II diabetes and Crohn disease. *J Med Genet.* 2008; 45(2): 114–6. DOI: [10.1136/jmg.2007.053595](https://doi.org/10.1136/jmg.2007.053595)
- Xiao J, Wang J, Xing F, Han T, Jiao R, Liang EC, Fung ML, So KF, Tipoe GL. Zeaxanthin dipalmitate therapeutically improves hepatic functions in an alcoholic fatty liver disease model through modulating MAPK pathway. *PLoS One.* 2014 Apr 16;9(4):e95214. DOI: [10.1371/journal.pone.0095214](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095214)
- Xu XY, Li WY, Hu XY. Alteration of Thyroid-Related Hormones within Normal Ranges and Early Functional Outcomes in Patients with Acute Ischemic Stroke. *Int J Endocrinol.* 2016;2016:3470490. DOI: [10.1155/2016/3470490](https://doi.org/10.1155/2016/3470490)
- Zafar J, Aqeel A, Shah FI, Ehsan N, Gohar UF, Moga MA, Festila D, Ciurea C, Irimie M, Chicea R. Biochemical and Immunological implications of Lutein and Zeaxanthin. *International Journal of Molecular Sciences.* 2021; 22(20):10910. <https://doi.org/10.3390/ijms222010910>
- Zhang L, Liu R, Niu W. Phytochemical and antiproliferative activity of proso millet. *PLoS One.* 2014;9(8):e104058. DOI: [10.1371/journal.pone.0104058](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104058)
- Zia-UI-Haq M. Past, Present and Future of Carotenoids Research. In *Carotenoids: Structure and Function in the Human Body*; Zia-UI-Haq M., Dewanjee S., Riaz M., Eds.; Springer: Cham, Switzerland, 2021; pp. 827–854.
- *Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update to CDC's sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006: fluoroquinolones no longer recommended for treatment of gonococcal infections. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2007; 56:332–336.

- * Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update to CDC's sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010: oral cephalosporins no longer a recommended treatment for gonococcal infections. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012; 61:590–594.
- * 2001 Consensus Guidelines for the management of Women With Cervical Cytological Abnormalities. (2002). *The Journal of the American Medical Association*, 287, 2120–2129.
- * Global Health Data Exchange. <http://ghdx.healthdata.org/> [Accessed 11 July 2017]
- * Globocan 2008 (IARC), Section of Cancer Information (<https://gco.iarc.fr/en>). Accessed 03 Jun 2024.
- * <http://www.idf.org/metabolic-syndrome>; Accessed April 2, 2014.
- * Japanese Society of Sexually Transmitted Infection. Gonococcal infection. Sexually transmitted infections, diagnosis and treatment guidelines 2011. *Jpn J Sex Transm. Dis.* 2011;22(Suppl 1):52–59.
- * National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference Method for Broth Dilution Susceptibility Testing of Conidium-Forming Filamentous Fungi: Proposed Standard. M38-P. Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1998.
- * NHS Choices. <http://www.nhs.uk/pages/home.aspx> [Accessed 11 July 2017]
- * Public Health Ontario. Guidelines for testing and treatment of gonorrhoea in Ontario, 2013.
- * Sexually Transmitted Disease Surveillance 2017. Centers for Disease Control and Prevention. Available at <https://www.cdc.gov/std/stats17/default.htm>. September 2018; Accessed: December 12, 2020.
- * WHO. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis)) Accessed 03 Jun 2024