

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ GENERALĂ**

TEZĂ DE DOCTORAT

**Conducător de doctorat:
PROF. UNIV. DR. MIRCEA IOAN POPA**

**Student-doctorand:
MĂDĂLINA IRINA MITRAN**

ANUL 2020

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ**

DOMENIUL MEDICINĂ GENERALĂ

***INFLUENȚA VIRUSURILOR HEPATITICE ASUPRA
STATUSULUI REDOX LA PACIENȚII CU LICHEN
PLAN***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Conducător de doctorat:
PROF. UNIV. DR. MIRCEA IOAN POPA**

**Student-doctorand:
MĂDĂLINA IRINA MITRAN**

ANUL 2020

Cuprins

Introducere	1
PARTEA GENERALĂ	
1. Lichen plan - caractere generale	7
1.1. Patogeneză	7
1.2. Forme clinice	8
1.3. Diagnostic diferențial	11
1.4. Aspecte histopatologice	12
1.5. Abordări terapeutice	12
2. Infecțiile cu virusurile hepatitice	15
2.1. Hepatita virală B	15
2.1.1. Date epidemiologice	15
2.1.2. Diagnosticul infecției cu VHB	15
2.1.3. Tratamentul infecției cu VHB	16
2.2 Hepatita virală C	17
2.2.1. Date epidemiologice	17
2.2.2. Diagnosticul infecției cu VHC	18
2.2.3. Tratamentul infecției cu VHC	19
2.3. Alte virusuri hepatitice	20
3. Mecanisme implicate în asocierea dintre lichen plan și infecțiile cu virusurile hepatitice B și C	22
3.1. Relația dintre LP și HVB	22
3.2. Relația dintre LP și HVC	23
3.2.1. HVC și manifestările extrahepatice	23
3.2.2. Particularități clinice și histopatologice la pacienții cu LP și HVC	24
3.2.3. Dovezi epidemiologice	25
3.2.4. Prezența virusului în țesuturi extrahepatice	27
3.2.5. Factori imunologici	27
3.3. Relația dintre LP și alte virusuri hepatitice	29

4. Stresul oxidativ în lichen plan și infecțiile cu virusurile hepatitice B și C	30
4.1. Date generale	30
4.2. Procese asociate stresului oxidativ	31
4.2.1. Peroxidarea lipidelor	32
4.2.2. Oxidarea proteinelor și alterarea proceselor post-tranlaționale ale proteinelor	33
4.2.3. Oxidarea acizilor nucleici	35
4.2.4. Activarea axei AGEs-RAGE	36
4.2.5. Rolul oligoelementelor și metaloproteinelor	37
4.2.6. Antioxidanții	40
4.3. LP și stresul oxidativ	41
4.4. Virusurile hepatitice B și C și stresul oxidativ	46
4.4.1. Stresul oxidativ în HVB	46
4.4.2. HVC și stresul oxidativ	47
CONTRIBUȚII PERSONALE	
5. Material și metodă	53
5.1. Premisele cercetării	53
5.2. Scopul studiului	53
5.3. Obiectivele studiului	53
5.4. Selectarea pacienților	54
5.5. Recoltarea și prelucrarea probelor	55
5.6. Markerii studiați și metode de lucru	56
5.6.1. Tehnica ELISA	58
5.6.2. Determinare markeri	60
5.7. Analiza statistică	66
6. Rezultate	67
6.1. Date epidemiologice	67
6.2. Caracteristicile participanților la studiu	67
6.3. Degradarea oxidativă a ADN	70
6.4. Formarea speciilor carbonil reactive	72

6.5. Dinamica procesului de glicare	78
6.6. Procese post-translaționale ale proteinelor	84
6.7. Statusul unor oligoelemente și metaloproteine	88
6.8. Evaluarea statusului antioxidant	95
6.9. Evaluarea procesului inflamator	97
6.10. Investigarea balanței prooxidanți-antioxidanți	99
6.11. Corelații ale markerilor de stres oxidativ și suprafața tegumentară afectată	113
6.12. Peroxidarea lipidică și SDMA	121
6.13. Peroxidarea lipidică și oligoelementele	125
7. Discuții	133
7.1. Procese rezultate în urma acțiunii speciilor reactive de oxigen.....	135
7.1.1. Degradarea oxidativă a ADN	135
7.1.2. Peroxidarea lipidelor – formarea speciilor carbonil reactive	137
7.1.3. Dinamica procesului de glicare	142
7.1.4. Gamma-glutamilaria	145
7.1.5. Metilarea argininei	146
7.1.6. Statusul unor oligoelemente și metaloproteine în stresul oxidativ	148
7.1.7. Statusul antioxidant	153
7.1.8. Statusul proinflamator	155
8. Concluzii	158
9. Originalitatea studiului	161
Bibliografie	163
Anexe	194

PARTEA GENERALĂ

1. Introducere

Lichenul plan (LP) este o afecțiune muco-cutanată cronică, mediată imun, cu etiologie necunoscută, cu distribuție la nivel global, nefiind identificată o predispoziție familială importantă. În ceea ce privește distribuția pe sexe, femeile sunt mai frecvent afectate decât bărbații. La sexul masculin s-a observat debutul la vârste mai tinere în comparație cu sexul feminin. LP poate debuta și în copilărie, în jur de 2-3% dintre indivizii afectați fiind copii (1). Majoritatea cazurilor debutează între decadele 3 și 6 de viață. Afectează în jur de 0,5-1% din populația generală (2). Patogeneza LP nu este pe deplin cunoscută. Au fost propuse mai multe teorii, teoria infecțioasă, teoria medicamentoasă, teoria autoimunității, etc (3).

Hepatitele virale B (HVB) și C (HVC) reprezintă în continuare o importantă sursă de morbiditate și mortalitate în populația generală în ciuda progreselor terapeutice care s-au realizat în ultimii ani. Rata de cronicizare mare și evoluția adeseori indolentă sunt factori importanți care contribuie la incidența crescută identificată la nivel global. Mecanismele patogenice ale virusurilor hepatitice deși intens studiate în ultimele decade nu sunt pe deplin elucidate. HVB și HVC reprezintă mai mult decât o infecție virală, evoluția către ciroză hepatică și în cele din urmă către cancer hepatocelular și asocierea cu multiple manifestări extrahepatice fac din HVB și HVC afecțiuni complexe cu numeroase implicații la nivel individual și populațional. Dintre manifestările extrahepatice cutanate, LP este printre cele mai discutate și investigate (4,5).

Studiile care atestă asocierea dintre LP și HVB sunt puține și majoritatea includ cazuri apărute după vaccinarea anti-hepatită B (6,7). Vaccinarea împotriva hepatitei B a fost asociată cu diverse afecțiuni mediate imun precum lupus eritematos, vasculită, miastenia gravis, etc. Mecanismul patogenic sugerat care ar putea sta la baza asocierii dintre vaccinarea anti-hepatită B și apariția leziunilor de LP este o reacție autoimună asemănătoare celei apărute în boala grefă contra gazdă. Se presupune că ar putea exista epitopi comuni între AgHBs și structuri ale keratinocitelor (8). Primul caz de LP asociat vaccinării împotriva hepatitei B a fost raportat în 1990. Ulterior au fost raportate și alte cazuri. Mecanismul incriminat este o reacție încrucișată între AgHBs utilizat în vaccin și structuri de la nivelul keratinocitelor, cu dezvoltarea unei reacții autoimune (8).

Asocierea dintre LP și HVC ar putea fi explicată prin faptul că agentul viral induce un proces autoimun, iar în patogeneza LP a fost observată o componentă imună, fiind asociat cu boli autoimune precum vitiligo, miastenia gravis, etc (3). Mai mult decât atât, la subiecții cu HVC s-au detectat mai multe tipuri de autoanticorpi printre care anti-cardiolipină, anti-nucleari, anti-mitocondriali, etc (9). În plus s-a observat că prevalența LP crește în rândul celor cu HVC cu vârsta, ceea ce implică faptul că infecția este prima care apare și este ulterior precedată de dezvoltarea leziunilor de LP (10). Pe de altă parte, s-au observat diferențe geografice în ceea ce privește asocierea dintre cele 2 afecțiuni, astfel incidența în Europa este de 4% și crește la 24% în vestul Asiei. Prin urmare trebuie luați în calcul factori de mediu, rasiali, genetici sau genotipurile virale (11). Se pare că particule virale de virus hepatitic C (VHC) au fost detectate în diferite celule (keratinocite, limfocite), virusul având un efect citopatic direct. Alți autori au emis teoria conform căreia virusul, afectând diferite organe conduce la apariția a diverse manifestări, astfel manifestările cutanate sunt de fapt rezultatul afectării funcției acelor organe (12). Cercetările recente sugerează că stresul oxidativ este implicat atât în patogeneza LP cât și a HVB și HVC (13,14).

2. Stresul oxidativ în lichen plan

Examene imunohistochimice au pus în evidență că în LP este prezent un infiltrat inflamator dens alcătuit din limfocite T CD4, care reprezintă o sursă de specii reactive de oxigen (SRO). Iar, SRO activează factorul nuclear kB (NF-kB) și rezultă creșterea expresiei E-selectinelor, ICAM-1 și VCAM-1, molecule care participă la migrarea limfocitelor la locul inflamației și formarea infiltratelor perivascularare intradermice, observate în LP (15). În plus, citokinele proinflamatorii eliberate vor stimula keratinocitele să producă SRO (16).

O trăsătură caracteristică LP este apoptoza keratinocitară, acompaniată de lichefacția celulelor stratului bazal. Degenerarea celulară poate fi rezultatul citokinelor eliberate de la nivelul infiltratului inflamator. Trebuie avut în vedere că SRO sunt implicate în mod clasic în apoptoză, ceea ce sugerează rolul stresului oxidativ în patogeneza LP (14). S-a pus în evidență că SRO reduc expresia p53, un inhibitor important al apoptozei. Un alt mecanism prin care SRO induc apoptoza este prin calea Fas-FasL. S-a observat că în prezența unui nivel crescut de antioxidanți precum glutatiunul, apoptoza mediată de Fas este inhibată (17). De asemenea apoptoza indusă de TNF alfa este mediată de SRO. Supraexpresia enzimelor antioxidante

precum SOD inhibă activarea căilor de semnalizare mediate de TNF alfa și activarea caspazelor, proteaze cu rol esențial în apoptoză (18).

În literatură medicală sunt disponibile studii care includ în special pacienți cu LP oral și care sugerează rolul stresului oxidativ în patogeneza LP (14,19). La pacienții cu LP oral s-a pus în evidență un nivel crescut al peroxidării lipidice. Se pare că acești compuși participă la activarea unor căi implicate în declanșarea apoptozei, mai exact la modularea expresiei Bcl-2 și Bax. De asemenea malondialdehida (MDA) și 4-hidroxinonenal (4-HNE) pot influența expresia NF-kB (20). NF-kB este implicat în expresia unor citokine precum interleukina (IL)-2 și factorul de necroză tumoral (TNF) alfa. La rândul său, TNF alfa este implicat în producerea SRO în keratinocitele epidermice. Procesele de oxidare ale structurilor bogate în lipide conduc la alterarea funcției acestora având drept consecințe promovarea unui status pro-inflamator și proliferare celulară anormală, procese observate și în LP (21). La nivelul mucoasei orale un rol important în generarea stresului oxidativ îl au și NADPH oxidazele exprimate de celulele epiteliale din structura ductelor salivare, care reprezintă surse pentru SRO. SRO pe de o parte întrețin un proces inflamator dar pe de altă parte sunt implicate în apărarea antimicrobiană de la nivelul mucoasei orale (22). Shirzad și colab. au analizat markeri ai peroxidării lipidice, dar la nivel salivar la pacienți cu LP oral. Nivelul de MDA a fost semnificativ mai crescut comparativ cu grupul control, iar capacitatea antioxidantă totală a salivei mai scăzută (23).

Sunt și studii care au demonstrat niveluri crescute la peroxidării lipidice la pacienții cu LP cutanat. Panchal și colab. au inclus în studiu 74 de pacienți cu LP și 51 de subiecți sănătoși și au observat că în grupul pacienților cu LP s-au înregistrat niveluri semnificativ mai crescute ale MDA și mai scăzute ale antioxidanților studiați (24). Leziunile celulare produse de stresul oxidativ pot conduce la accentuarea procesului autoimun din LP. Pot fi generate autoantigene care să conducă la activarea răspunsului imun și formarea de autoanticorpi. Se pare că MDA și 4-HNE pot forma aducți proteici care au proprietăți imunogene (16).

Antioxidanții par să aibă un rol important în patogeneza LP. În saliva pacienților cu LP oral au fost identificate niveluri mai scăzute ale vitaminelor A, C și E comparativ cu grupul control. Acest fapt poate explica nivelul crescut al peroxidării lipidice observat în rândul acestor pacienți. Vitaminele A și E inhibă peroxidarea lipidică la nivelul membranei celulare. Bazat pe aceste rezultate Abdolsamadi și colab. au afirmat că nivelul scăzut al antioxidanților poate fi privit ca un factor de risc pentru apariția LP oral (25). Studiul realizat de Nicolae și colab. în

care au fost incluși 49 de pacienți cu LP cutanat și 28 cu LP oral și un grup de 50 de subiecți sănătoși a pus în evidență niveluri urinare mai scăzute ale vitaminei C, în rândul pacienților cu LP, comparativ cu grupul control (26). Mai mult Barikbin și colab. au observat niveluri serice scăzute ale vitaminei C la un grup de pacienți cu LP și atrag atenția asupra suplimentelor bazate pe vitamina C ca adjuvanți în tratamentul LP. De asemenea au pus în evidență o corelație pozitivă între nivelul seric al seleniului și activitatea glutatation peroxidazei (19).

3. Virusurile hepatitice B și C și stresul oxidativ

Mai multe studii au demonstrat un nivel crescut al peroxidării lipidice la pacienți cu HVB. Se pare că produșii rezultați din peroxidarea lipidică conduc la activarea celulelor hepatice stelate care vor iniția procesul de fibroză. De asemenea la pacienții cu HVB cronică s-au pus în evidență, în urină, niveluri crescute de 8-OHdG ceea ce denotă leziuni oxidative la nivelul ADN (27). Astfel stresul oxidativ poate fi un mecanism important implicat în apariția carcinomului hepatocelular. O observație interesantă expusă de Feng și colab. este că nivelul stresului oxidativ este influențat de genotipul implicat și de mutațiile asociate rezistenței la antivirale (28).

Mecanismele prin care virusul hepatitic B (VHB) induce stres oxidativ sunt incomplet elucidate, se pare că sunt implicate 3 proteine virale, proteina HBx și antigenele HBs și HBe. Celulele hepatice care exprimă HBx prezintă o activitate scăzută a complexelor lanțului respirator I, III, IV, V ceea ce asociază o reducere a potențialului mitocondrial membranar și creșterea formării SRO (29). Hsieh și colab. au pus în evidență că în HVB cronică apar forme modificate ale AgHBs caracterizate prin deleția leziunii pre-S. Aceste forme mutante se acumulează în reticulul endoplasmic, generând un nivel de stres crescut. Are loc oxidarea ADN și apariția mutațiilor ceea ce presupune o instabilitate genomică în cazul hepatocitelor infectate (30).

La pacienții cu hepatită C s-au pus în evidență niveluri crescute ale SRO și o apărare antioxidantă deficitară (13,31). S-au observat la acești pacienți niveluri serice crescute ale unor compuși rezultați în urma acțiunii SRO, precum 4-HNE și 8-OHdG. Principalele surse de SRO în hepatita C sunt inflamația cronică și supraîncărcarea cu fier. În plus proteinele virale pot acționa ca elemente stimulative ale stresului oxidativ în celulele infectate (32). O altă sursă de stres oxidativ în hepatita C, în special la pacienții care consumă alcool sunt enzimele din familia

citocromului P450 (33). Atât replicarea virală cât și proteinele structurale și non-structurale virale reprezintă inductori ai stresului oxidativ (34).

La nivelul hepatocitelor și macrofagelor hepatice se găsesc depozite importante de fier. Depozitele crescute de fier detectate la pacienții cu hepatită C sunt rezultatul scăderii expresiei hepcidinei, care modulează în sens negativ absorbția de fier, care urmare a stresului oxidativ indus de VHC (33). Nivelul crescut de fier implică alterări la nivelul ADN și peroxidarea lipidelor (35). Cantitatea crescută de fier bivalent poate avea efect toxic și conduce la producerea de radicali hidroxil în cadrul reacției Fenton (36). S-a observat o corelație pozitivă între nivelul de 8-OHdG și cantitatea de fier la pacienții cu hepatită C cronică (37). Într-un grup de pacienți cu HVB acută și cronică au fost mășurați markeri de stres oxidativ, și anume MDA, beta caroten și glutatation și s-a pus în evidență o creștere a nivelului MDA și o scădere a antioxidanților, beta caroten și glutatation. După tratamentul cu interferon alfa a pacienților cu HVB cronică, valorile parametrilor studiați s-au normalizat (38).

În cadrul infecției cu VHC principala sursă de generare a SRO este mitocondria (31). În ceea ce privește sursele extramitocondriale, un rol esențial îl dețin reticulul endoplasmic și NADPH oxidazele (39). S-au pus în evidență anomalii mitocondriale, care implică inclusiv lanțul de transport al electronilor de la nivel mitocondrial, care se pare că reprezintă o sursă importantă de SRO în celulele infectate (33). Proteinele virale conduc la activarea a diferite căi de semnalizare precum calea kinazelor MAP sau calea de semnalizare mediată de NF-kB. VHC produce alterarea a numeroase căi de semnalizare, stimulând replicarea virală. Calea kinazelor MAP este un element cheie în controlul replicării virale (40). Proteina core interacționează direct cu mitocondria rezultând scăderea nivelului de NADPH și scăderea activității complexului de transport al electronilor. Proteinele non-structurale NS5A și NS4B produc stres oxidativ prin inducerea de stres la nivelul reticulului endoplasmic (34). Glicoproteinele E1 și E2 pot fi implicate, dar cel mai puternic modulator rămâne proteina core (41).

CONTRIBUȚII PERSONALE

4. Material și metodă

4.1. Premisele cercetării

Hepatitele virale B și C reprezintă o importantă problemă de sănătate publică la nivel mondial, dar și în țara noastră. În România cazurile noi de HVB sunt în ușoară scădere, dar țara noastră continuă să se afle printre primele locuri în Europa, în schimb cazurile de HVC sunt în creștere, o cauză ar putea fi creșterea numărului consumatorilor de droguri intravenos (42).

LP este o boală cronică, inflamatorie, de cauză necunoscută, care afectează pielea, mucoasele, unghiile și părul. Multe studii au pus în evidență asocierea dintre LP și hepatitele virale, în special cu HVC. Mecanismele asocierii celor două afecțiuni sunt incomplet elucidate, fiind emise de-a lungul timpului mai multe teorii, teoria infecțioasă, teoria implicării unor agenți medicamentoși sau teoria autoimună (43). În literatura medicală sunt studii care atestă creșterea stresului oxidativ în infecțiile cu VHB și VHC (27,34). Cu privire la LP studiile disponibile au pus în evidență alterarea balanței dintre prooxidanți și antioxidanți, focusându-se în special pe studiul LP oral (23,44). Până în prezent nu s-a realizat niciun studiu comparativ din perspectiva stresului oxidativ care să includă pacienți cu LP cu și fără hepatită virală.

4.2. Scopul studiului

Investigarea influenței virusurilor hepatitice asupra statusului redox la pacienți cu LP și identificarea unor potențiali biomarkeri și ținte terapeutice utili la acești pacienți.

4.3. Obiectivele studiului

4.3.1. Obiective principale:

- ❖ Evaluarea degradării oxidative a ADN
- ❖ Evaluarea formării speciilor carbonil reactive
- ❖ Studiul dinamicii procesului de glicare
- ❖ Analiza proceselor posttranslaționale ale proteinelor
- ❖ Analiza statusului unor oligoelemente și metaloproteine
- ❖ Evaluarea statusului antioxidant

- ❖ Evaluarea statusului inflamator

4.3.2. Obiective secundare:

- ❖ Obținerea unor date referitoare la numărul infecțiilor cu VHB și VHC în rândul pacienților cu LP
- ❖ Observarea aspectelor clinice ale LP la pacienți cu și fără infecție virală hepatică

4.4. Selectarea pacienților

Studiul efectuat a fost de tip observațional, caz-control și s-a desfășurat în perioada 2017-2019, la Spitalul Clinic Dr. “Victor Babeș”, din București. Am analizat pacienți cu LP, pacienți cu HVC, pacienți cu HVB, pacienți care asociau LP cu infecție virală și un grup control, care s-au adresat Clinicii de Dermatologie și Clinicii de Boli Infecțioase. În cazul tuturor pacienților cu LP s-a realizat screening pentru infecția cu virusurile hepatitice B (VHB) și C (VHC), iar în cazul pacienților cu HVB și HVC s-a urmărit prezența leziunilor de LP. Am realizat screening-ul a 120 de pacienți cu LP și am identificat 12 pacienți cu HVC, dintre care 8 au îndeplinit criteriile studiului. Urmărind pacienți cu HVC am mai identificat 4 pacienți eligibili, rezultând un grup de 12 pacienți cu LP și HVC. În urma screening-ului am identificat de asemenea 3 pacienți cu HVB. ceea ce este în concordanță cu datele din literatura medicală, discutate în “Partea generală”.

Ținând cont de criteriile de includere și de excludere au fost alcătuite 4 grupuri astfel:

- 12 pacienți cu LP și HVC (grupul A),
- 12 pacienți cu HVC (grupul B),
- 31 pacienți cu LP (grupul C),
- 26 persoane sănătoase (grupul D).

Toți participanții la studiu au semnat un consimțământ informat prin care și-au dat acordul pentru participare. Studiul a primit aprobarea Comisiei de Etică a Universității de Medicină și Farmacie “Carol Davila”, București (nr. 149/2017).

Diagnosticul de LP s-a realizat pe criterii clinice și histopatologice. Diagnosticarea infecției cu VHC s-a realizat pe baza detectării anticorpilor anti-VHC și a ARN viral în probele de sânge recoltate. Pentru diagnosticarea infecției cu VHB s-au determinat markeri serologici

specifici incluzând Ag HBs, Ac anti-HBs, Ag HBe, Ac anti-HBe. În ceea ce privește infecția cu VHC au fost incluși doar pacienții cu HVC cronică, asimptomatici, fără semne de boală activă.

Criterii de includere în studiu:

- Pacienți cu vârste mai mari de 18 ani
- Normoponderali
- Aport nutritiv adecvat

Criterii de excludere din studiu:

- Consumul de tutun
- Consumul de alcool
- Utilizarea drogurilor
- Tratament cu corticosteroizi, antiinflamatoare nesteroidiene, agenți imunosupresori
- Consumul de vitamine, suplimente alimentare
- Sarcina

Criteriile de excludere includ condiții care pot influența markerii de stress oxidativ studiați. Toți pacienții incluși în studiu se aflau în perioada de pretratament, atât în ceea ce privește LP cât și HVC.

4.5. Recoltarea și prelucrarea probelor

Probele de sânge venos au fost recoltate a jeun, utilizând sistemul holder vacutainer. Probele hemolizate sau lactescente au fost respinse. Probele de sânge venos colectate în tuburi conținând un anticoagulant (K3EDTA), au fost utilizate pentru teste hematologice. Probele de sânge venos colectate în vacutainer fără anticoagulant au fost utilizate pentru determinări biochimice, serologice și imunologice. Probele recoltate au fost imediat utilizate sau stocate la o temperatură de -80 gr C.

4.6. Markerii studiați și metode de lucru

Au fost investigate următoarele procese implicate în statusul redox, pe baza unor markeri de stres oxidativ în condiții normale (grupul control) și la pacienți cu leziuni de LP și infecție cu VHC (grupul A), pacienți cu infecție cu VHC, fără LP (grupul B), pacienți cu LP, fără infecție cu VHC (grupul C). Parametrii de stres de oxidativ au fost clasificați astfel:

1. Degradarea oxidativă a ADN
 - 8-hidroxi-2' -deoxiguanozina (8-OHdG)
2. Formarea speciilor carbonil reactive
 - 4-hidroxinonenal (4-HNE)
 - malondialdehida (MDA)
 - substanțele reactive ale acidului tiobarbituric (TBARS)
3. Dinamica procesului de glicare
 - receptorul solubil pentru produșii finali de glicare avansată (sRAGE)
 - produși finali de glicare avansată (AGEs)
4. Procese posttranzlaționale ale proteinelor
 - gamma-glutamilarie: gamma-glutamilttransferaza (GGT)
 - metilarea argininei: dimetil arginina simetrică (SDMA)
5. Statusul unor oligoelemente și metaloproteine
 - cupru (Cu)
 - fier (Fe)
 - transferina
 - feritina
 - ceruloplasmina
6. Evaluarea statusului antioxidant
 - Capacitatea antioxidantă totală (TAC)
7. Evaluarea statusului inflamator
 - Proteina C reactivă hipersensibilă (hsCRP)

Metodele utilizate pentru determinarea markerilor studiați sunt redată în Tabelul IV.6.1. Probele au fost lucrate în duplicat conform protoclului pus la dispoziție de producător. În ceea ce privește tehnica ELISA, s-au utilizat plăci cu 96 de godeuri, iar pentru evaluarea colorimetrică a produsului final s-a utilizat analizorul semiautomat Tecan. În cazul celorlalte determinări spectrofotometrice s-a utilizat cu HumaStar 300.

Tabelul IV.6.1. Metode de determinare a markerilor studiați

Marker	Metoda
8-OHdG	ELISA competitive

4-HNE	ELISA competitive
MDA	ELISA competitive
TBARS	Metoda spectrofotometrică
sRAGE	ELISA sandwich
AGEs	ELISA competitive
GGT	Metoda spectrofotometrică
SDMA	ELISA competitive
Fe	Metoda spectrofotometrică
Cu	Metoda spectrofotometrică
Transferina	Metoda imunoturbidimetrică
Feritina	Metoda imunoturbidimetrică
Ceruloplasmina	Metoda imunoturbidimetrică
TAC	ELISA competitivă
hsCRP	Metoda latex imunoturbidimetrică

5. Rezultate și discuții

LP este o afecțiune cutanată inflamatorie cronică, mediată imun, afectând atât tegumentele, cât și mucoasele, firul de păr și unghiile (45). Patogeneza LP are la bază prezența infiltratului inflamator în care predomină limfocitele T, citokinele jucând un rol crucial în procesul de chemotactism al limfocitelor T. În același timp citokinele stimulează producția de SRO. Trebuie ținut cont că SRO pot induce apoptoza celulară, element definitoriu al aspectului histopatologic întâlnit în LP, ceea ce sugerează rolul stresului oxidativ în patogeneza LP (46). În același timp, studiile actuale indică participarea stresului oxidativ în patogeneza infecției cu VHC, atribuind stresului oxidativ un rol important în cronicizarea infecției și în dezvoltarea unor manifestări extrahepatice precum boli cardiovasculare, diabet zaharat tip 2, afecțiuni autoimune, boli neurologice, etc (13). Datele actuale nu oferă informații clare despre implicarea stresului oxidativ în apariția leziunilor hepatice și extrahepatice, încă nu se poate răspunde la întrebarea dacă stresul oxidativ este cauza sau consecința (37).

LP și HVC sunt două afecțiuni care se asociază, prevalența infecției cu VHC fiind până la de 9 ori mai mare în rândul pacienților cu LP față de populația generală (47). Cercetarea noastră a arătat că un procent de 10% dintre pacienții cu LP prezentau infecție cu VHC. În ceea ce privește HVB, un număr restrâns de studii susțin asocierea dintre LP și HVB (6,7). În studiul nostru am identificat doar 3 pacienți (3,59%) infectați cu VHB în rândul pacienților cu LP, la care am realizat screening-ul pentru infecțiile cu virusuri hepatitice. Datele furnizate de Centrul European de Prevenție și Control al Bolilor arată că prevalența HVB este de 4,4%, iar prevalența

HVC de 3,2% în populația generală. Având în vedere aceste date, studiul nostru sugerează că nu există o asociere dintre LP și HVB (42).

Prevalența LP în populația generală variază între 0,22 și 5%. Afectează în special adulții de vârstă medie, neobservându-se o predilecție pentru unul dintre sexe în majoritatea studiilor, cu toate că unii autori au identificat o incidență ușor crescută în rândul femeilor (48). În studiul nostru, în rândul pacienților cu LP a predominat sexul feminin. Majoritatea pacienților cu LP au avut vârste cuprinse în decada a șasea. Toți pacienții incluși în studiu diagnosticați cu LP au prezentat leziuni de LP la nivel cutanat. Asocierea cu leziuni de LP oral și LP pilar a fost mai frecventă la pacienții care prezentau și infecție cu VHC (LP oral - 25% vs. 16,12%, LP pilar - 8,33% vs. 3,22%). În ceea ce privește LP unghial procentele au fost asemănătoare (8,33% vs. 9,67%). Statisticile arată că afectarea mucoasă poate să fie prezentă până la 70% dintre pacienții cu leziuni cutanate, afectările pilare și unghiale fiind mult mai rar întâlnite (45).

Anumite mecanisme patogenice precum stresul oxidativ pot sta la baza asocierii dintre LP și HVC. În cazul în care balanța prooxidanți-antioxidanți este alterată se dezvoltă stresul oxidativ, care, conform studiilor recente, este responsabil de numeroase afecțiuni (49). Pielea este principala țintă a SRO. Stresul oxidativ reprezintă o parte intrinsecă a metabolismului la nivel cutanat. În țesutul cutanat, în condiții normale sunt produse cantități reduse de SRO, care contribuie la procese precum proliferarea, diferențierea și apoptoza celulară (50). Din ce în ce mai multe studii atribuie un rol important stresului oxidativ în patogeneza unor afecțiuni cutanate cu componentă autoimună precum alopecia areata, pemfigus vulgar, psoriazis, etc (51).

Studiile arată că există interconexiuni între stresul oxidativ și infecțiile virale. SRO pot contribui la replicarea virală și propagarea infecției, în funcție de celulele infectate și tipul de virus. De cele mai multe ori, odată ce virusul este detectat de sistemul imun și celulele inflamatorii sunt atrase la locul infecției și activate, crește activitatea NADPH oxidazelor și sinteza de oxid nitric. Un rol important în producerea SRO îl au citokinele proinflamatorii. În primele etape ale infecției, producerea de SRO reprezintă un mecanism de apărare al gazdei împotriva virusului. Dar pe măsură ce infecția avansează, SRO se acumulează exercitând efecte nocive asupra gazdei precum perpetuarea unui proces inflamator, moarte celulară, etc (52).

5.1. Procese rezultate în urma acțiunii speciilor reactive de oxigen

Nu este posibilă măsurarea directă a SRO, de cele mai multe ori se măsoară producții rezultate în urma acțiunii stresului oxidativ. Majoritatea studiilor se realizează *in vitro*, concentrându-se pe măsurarea produșilor rezultați în urma peroxidării lipidelor, oxidării proteinelor și oxidării ADN (53).

5.1.1. Degradarea oxidativă a ADN

Determinările noastre au arătat că nivelul seric de 8-OHdG a crescut progresiv dinspre grupul control (grupul D), către grupul de pacienți care prezentau atât LP cât și HVC (grupul A). S-au identificat diferențe semnificative statistic între grupurile de pacienți prin raportare la grupul control. Însă în ceea ce privește compararea grupurilor de pacienți între ele, nu au existat diferențe semnificative. Aceste date sugerează că ambele afecțiuni se caracterizează prin degradarea oxidativă crescută a ADN, iar creșterea progresivă ar putea semnala influența VHC asupra statusului redox la pacienții cu LP, cu repercusiuni inclusiv la nivelul acizilor nucleici.

Unul dintre principalele efecte ale stresului oxidativ este degradarea oxidativă a ADN. ADN de la nivel nuclear din țesuturi și limfocite reprezintă ținta stresului oxidativ. În urma oxidării, o grupare hidroxil este adăugată în poziția 8 a guaninei, cea mai vulnerabilă bază azotată la acțiunea SRO, rezultând 8-OHdG (54). 8-OHdG este cel mai utilizat marker de stres oxidativ rezultat în urma alterării ADN (55). 8-OHdG este considerat un important biomarker în carcinogeneză (56).

Kaur și colab. au investigat pacienți cu LP, însă au inclus în studiu pacienți cu LP oral, realizând determinările în salivă. Au identificat un nivel crescut salivar de 8-OHdG la pacienți cu LP oral, dar și la pacienți cu alte afecțiuni premaligne orale (leucoplakie orală, fibroză submucoasă orală) (57). În plus, există studii care arată un nivel crescut al 8-OHdG în carcinomul spinocelular (58), ceea ce sugerează că stresul oxidativ ar putea avea un rol în transformarea malignă a leziunilor de LP oral.

Studiul realizat de Fujita și colab. care a investigat expresia 8-OHdG la nivelul unor probe de țesut hepatic recoltate de la pacienți cu hepatită C cronică completează rezultatele noastre. Au arătat că expresia 8-OHdG se corelează cu nivelul transaminazelor serice și activitatea bolii. În plus, s-a observat o corelație pozitivă între expresia 8-OHdG și nivelul seric de feritină (37). Noi am introdus în studiu doar pacienți care prezentau valori normale ale

transaminazelor. Chuma și colab. propun nivelul crescut de 8-OHdG drept un factor de risc de dezvoltare a carcinomului hepatocelular la pacienții cu hepatită cronică. 8-OHdG poate fi implicat în dereglarea proliferării celulare și în apoptoza celulară. În plus pot apărea mutații genetice importante (59). Având în vedere aceste rezultate considerăm utilă determinarea nivelului de 8-OHdG la pacienții cu HVC și realizarea unor studii suplimentare în această direcție. Stresul oxidativ a fost identificat și în alte infecții virale (60).

Determinări serice de 8-OHdG la pacienți cu LP cutanat nu sunt disponibile în literatura medicală. Rezultatele obținute sugerează complexitatea patogenezei LP, existând alterări inclusiv la nivelul ADN. VHC poate deține un rol cheie în perpetuarea stresului oxidativ (61).

5.1.2. Peroxidarea lipidelor – formarea speciilor carbonil reactive

În studiul nostru, nivelurile serice de MDA au fost cele mai ridicate în grupul A, la pacienții cu HVC și LP. S-a observat o descreștere progresivă către grupul control. S-au identificat diferențe semnificative statistic între nivelurile detectate în grupurile de pacienți în comparație cu grupul control. În plus, s-a observat o diferență semnificativă statistic între pacienții cu HVC (grupul B) și pacienții cu LP (grupul C) și între pacienții cu LP și HVC (grupul A) și pacienții cu LP (grupul C). Rezultatele arată că nivelul peroxidării lipidice exprimat prin MDA a fost mai crescut în cazul HVC în comparație cu LP iar pacienții care prezintă ambele afecțiuni au avut un nivel de MDA mai ridicat. Datele obținute sugerează influența infecției cu VHC asupra statusului redox la pacienții cu HVC, având loc amplificarea peroxidării lipidice (62).

MDA generată în cursul peroxidării lipidice este un compus înalt reactiv, care induce modificări la nivelul proteinelor, prin alterări la nivelul aminoacizilor, cu formarea de neo-epitopi, care conduc la declanșarea unui răspuns imun cu producerea de anticorpi (63). De aceea ar putea avea rol în patogeneza bolilor autoimune. Trebuie avut în vedere că una dintre teoriile importante propuse în patogeneza LP este autoimunitatea. Rolul MDA în autoimunitate este susținut și de un studiu recent care a inclus pacienți cu lupus eritematos sistemic și a pus în evidență o corelație pozitivă între titrul de IgG anti-MDA și markeri de inflamație sistemică. MDA este implicată și în procesul de carcinogeneză și apariția a diferite afecțiuni, interferând cu ciclul celular și apoptoza (64).

Rezultatele noastre sunt susținute și de alte studii care au obținut rezultate similare. Hassan și colab. au investigat nivelul plasmatic de MDA la pacienți cu LP cutanat și au obținut de asemenea un nivel crescut în comparație cu grupul control (65). Majoritatea cercetărilor s-au focusat pe studiul peroxidării lipidice la pacienți cu LP oral, realizând determinarea markerilor în salivă. S-a identificat prezența peroxidării lipidice, cu creșterea nivelului de MDA (25).

În ceea ce privește patogeniza hepatitei C, cercetările din ultimii ani s-au concentrat și pe studiul peroxidării lipidice. Sunt studii care susțin rezultatele noastre. Un studiu recent a analizat markeri de stres oxidativ în faza pre, respectiv post-terapeutică la copii cu hepatită C. Nivelul seric de MDA a fost crescut, iar nivelul de glutatation peroxidază eritrocitară a fost scăzut în raport cu grupul control, însă valorile s-au modificat post-tratament sugerând implicarea stresului oxidativ. Nivelurile celor doi parametri studiați nu au înregistrat modificări în cazul pacienților neresponsivi la terapie. Astfel, tratamentul adjuvant cu antioxidanți ar putea fi util în tratamentul HVC (66).

În studiul nostru, nivelurile serice de 4-HNE au fost cele mai ridicate în grupul A, la pacienții cu HVC și LP, înregistrându-se o descreștere progresivă către grupul control. S-au identificat diferențe semnificative statistic între nivelurile detectate în grupurile de pacienți în comparație cu grupul control. Nu s-au observat diferențe între grupuri. Aceste rezultate sugerează că în cazul afecțiunilor studiate, MDA este un marker cu specificitate mai crescută. Trebuie ținut cont și de faptul că MDA este produsul principal rezultat în urma peroxidării lipidice, reprezentând în jur de 70%, în schimb 4-HNE reprezintă doar 5% din totalul aldehydelor (67).

4-HNE interferează cu funcțiile celulare prin producerea de aducți cu proteine implicate în procese de semnalizare și expresia unor enzime precum kinaze, fosfataze, etc (63). 4-HNE este implicat în activarea căilor extrinseci de apoptoză celulară, modulează expresia factorilor de transcripție Nf-kB și AP-1. Spre exemplu modulând expresia NF-kB, 4-HNE induce eliberarea de citokine proinflamatorii, proliferare și diferențiere celulară. Are capacitatea de a forma aducți cu proteinele, în special cu reziduuri de cisteină din structura proteinelor ce conțin tioli, modificându-le funcția. Se pare că există o relație direct proporțională între numărul de aducți formați și efectele dăunătoare asupra homeostaziei celulare (68).

Sander și colab. au studiat markeri de stres oxidativ, inclusiv 4-HNE, însă pe probe de țesut recoltate de la paciente cu LP vulvar, forma erozivă. Este singurul studiu identificat în

literatura medicală care investighează 4-HNE la pacienți cu LP. Atât expresia markerilor peroxidării lipidice (MDA și 4-HNE) cât și a 8-OHdG au fost crescute în probele de țesut analizate. Astfel, nivelul crescut de 8-OHdG ar putea reprezenta un mecanism implicat în transformarea malignă. Investigațiile realizate au pus în evidență și creșterea oxidării proteinelor, cu acumularea unor proteine alterate din punct de vedere structural și funcțional, în special în vecinătatea joncțiunii dermo-epidermice (16). Aceste rezultate alături de cele prezentate mai sus referitoare la MDA sugerează că stresul oxidativ poate sta la baza dezvoltării bolilor autoimune și poate deține un rol important în patogeneza LP, dar mai sunt necesare cercetări în acest domeniu (16).

Rezultatele unui studiu recent care a presupus analiza unor biopsii prelevate de la nivel hepatic la persoane infectate cu VHC și a arătat prezența aducțiilor de MDA (în 77% din cazuri) și 4-HNE (în 30% din cazuri) în cantitate crescută, predominând MDA, confirmă rezultatele noastre, evidențiind că produsul principal al peroxidării lipidice la pacienții cu HVC este reprezentat de MDA. În plus s-a pus în evidență o corelație pozitivă între MDA și gradul de activitate al hepatitei C cronice. A fost evaluată și corelația dintre MDA și încărcătura cu fier. Corelația a fost pozitivă, dar fără semnificație statistică (69). Noi nu am identificat corelații între markerii de peroxidare lipidică și nivelurile serice de Fe și Cu în niciunul din grupurile studiate. Astfel rezultatele noastre nu au arătat influența metalelor redox active asupra procesului de peroxidare lipidică. În plus, nivelurile serice de Fe și Cu în grupurile studiate nu au variat semnificativ în comparație cu grupul control.

Studiul nostru este primul care măsoară nivelul de 4-HNE la pacienți cu LP cutanat, atrăgând atenția asupra importanței procesului de peroxidare lipidică în patogeneza acestei afecțiuni.

În studiul nostru, nivelurile serice de TBARS au fost de asemenea cele mai ridicate în grupul A, la pacienții cu HVC și LP și cele mai scăzute în grupul control, existând semnificație statistică cu privire la raportarea grupurilor de pacienți la grupul control. Nu au existat diferențe între grupurile de pacienți. Rezultatele obținute indică superioritatea metodei de măsurare a MDA prin tehnica ELISA în comparație cu detectarea prin raportare la nivelul de TBARS.

TBARS sunt molecule cu reactivitate crescută, formate în procesul de peroxidare lipidică. Rezultă din metabolismul acidului arahidonic. TBARS formează legături covalente cu proteinele, fosfolipidele și acizii nucleici (70).

Au fost descrise mai multe metode de cuantificare a nivelului MDA dintr-o probă. Cea mai folosită metodă este cea care are la bază detectarea complexului MDA-acid tiobarbituric (TBA) prin spectrofotometrie indirectă sau prin metode cromatografice directe. Trebuie avut în vedere că MDA are dimensiuni mici, este polară, relativ instabilă, cu solubilitate crescută în apă și nu are în structura sa cromofori, fluorofori sau electrofori care să permită detecția sa (71). Unii cercetători consideră că metoda are specificitate scăzută pentru că există anumiți compuși în probele biologice care de asemenea pot forma aducți cu TBA. Cu toate acestea rămâne cea mai utilizată metodă (72).

Peroxidarea lipidică este un proces patologic prezent atât în LP cât și HVC, toți cei trei markeri studiați în cursul cercetării doctorale, înregistrând valori ridicate. Studiul nostru investighează o gamă largă de markeri de peroxidare lipidică ceea ce oferă o imagine mai clară asupra acestui proces atât în ceea ce privește patogeneza LP cât și a HVC. Rezultatele obținute denotă influența infecției cu VHC asupra statusului redox la pacienții cu HVC, având loc amplificarea peroxidării lipidice, reprezentată în special prin nivelul seric de MDA. În plus aduce în atenție noi markeri de peroxidare lipidică, precum 4-HNE la pacienții cu LP.

5.1.3. Dinamica procesului de glicare

În studiul nostru, scăderea nivelului seric al sRAGE a fost detectată în toate grupurile de pacienți studiate în comparație cu grupul control, cea mai mică valoare medie fiind identificată la pacienții cu ambele afecțiuni, LP și HVC (grupul A). S-au identificat diferențe semnificative statistic doar în ceea ce privește grupurile A și B în comparație cu grupul control (grupul D). În plus nivelul sRAGE a fost semnificativ statistic mai mic în grupul pacienților cu LP și HVC (grupul A), în comparație cu pacienții cu LP (grupul C). Nu a existat o diferență semnificativă statistic între grupul C și grupul control (grupul D). Rezultate similare s-au obținut în cazul nivelului de AGEs, cea mai mare valoare fiind măsurată la pacienții cu ambele afecțiuni, înregistrându-se o scădere progresivă, cu semnificație statistică prin raportare la grupul control doar în cazul grupurilor A și C, fără diferențe între grupuri. S-au identificat corelații slab-moderat negative în grupurile studiate între nivelurile serice de sRAGE și AGEs, dar fără semnificație statistică. Mecanismele citoprotectoare exprimate prin nivelul scăzut de sRAGE în asociere cu un nivel seric de AGEs nesemnificativ statistic mai mare în comparație cu grupul control au fost prezente la pacienții cu HVC, la care afecțiunea evolua de o perioadă mai

îndelungată. În schimb la pacienții cu LP s-a detectat acumularea AGEs fără declanșarea mecanismelor citoprotectoare.

Dinamica procesului de glicare poate fi implicată în numeroase afecțiuni, fapt dovedit și de numeroasele cercetări recente care atribuie axei AGEs-RAGE un rol important în patologii diverse (73). RAGE este exprimat într-o varietate de țesuturi în organismul uman, incluzând celule vasculare, miocite cardiace, monocite, macrofage, interacționând cu o serie de liganzi (74). Principalii liganzi ai RAGE sunt reprezentați de AGEs. Numeroși AGEs au fost identificați de la descoperirea primei proteine glicozilate, hemoglobina glicozilată în cadrul diabetului zaharat. Dintre aceștia cel mai frecvent detectați la nivel cutanat sunt pentozidina, compuși dicarbonilici (glioxal, metilglioxal), carboximetil lizina, etc. Majoritatea celulelor posedă căi de detoxifiere și de eliminare ale AGEs. Acțiunea glioxalazelor reprezintă unul dintre principalele mecanisme celulare de prevenire a acumulării AGEs (75).

Similar rezultatelor noastre, studiul realizat de Butscheid și colab. nu a pus în evidență un nivel crescut de AGEs la pacienți cu HVC (76). În schimb un alt studiu concluzionează că axa AGEs-sRAGE este implicată în leziunile hepatice prin scăderea eliberării de citokine implicate în regenerare tisulară, creșterea sintezei proteinelor matricei extracelulare și stimularea fibrozei (77). Moy și colab. sugerează că axa AGEs-RAGE prin creșterea producției de SRO și perpetuarea unui proces inflamator poate fi implicată în apariția leziunilor hepatice și ulterior chiar a cancerului hepatocelular și concluzionează că sRAGE poate avea un efect protectiv, prevenind evoluția către neoplazie (78). Aceste date sugerează că studiul axei AGEs-sRAGE ar putea să-și găsească utilitatea și la pacienții cu LP oral, fiind bine cunoscut potențialul de transformare malignă a acestei afecțiuni. Din ce în ce mai multe studii sugerează că blocarea RAGE ar putea reprezenta o opțiune terapeutică valoroasă în diverse afecțiuni (79).

Plecând de la aceste date care arată activarea axei AGEs-sRAGE atât în HVC cât și LP considerăm că studierea dinamicii procesului de glicare ar putea aduce noi perspective în patogeneza acestor afecțiuni (80). În plus, cercetarea axei AGEs-sRAGE și la pacienți cu hepatită C și LP și observarea modificărilor survenite când cele două afecțiuni (LP și HVC) se asociază, ar putea să deschidă noi orizonturi asupra mecanismelor care stau la baza asocierii celor două boli. Este primul studiu care investighează acești parametri la pacienți cu LP.

5.1.4. Gamma-glutamilarea

Determinările noastre au arătat că nivelul seric de GGT a fost asemănător în grupul pacienților cu LP (grupul C) și grupul control (grupul D). Niveluri serice mai ridicate s-au identificat în grupurile A și B, cu diferențe semnificative statistic în raport cu grupul control, dar și în urma comparării celor două grupuri. Astfel nivelul cel mai ridicat a fost în cazul pacienților cu LP și HVC. Datele obținute sugerează că în LP, GGT nu poate fi utilizat drept un marker de stres oxidativ, însă sub influența infecției cu VHC activitatea enzimei crește ceea ce indică faptul că infecția cu VHC ar putea amplifica stresul oxidativ la pacienții cu LP. În grupul pacienților cu LP și HVC și în grupul pacienților cu HVC, s-au obținut corelații pozitive între GGT și TAC, ceea ce a indicat că GGT ar putea avea un rol în apărarea antioxidantă.

Studiile recente arată că GGT poate juca un rol dual, atât ca prooxidant cât și în apărarea antioxidantă. Se pare că GGT poate fi implicată în producția de SRO, atunci când expresia sa are loc în prezența fierului sau altor metale. Cisteinil-glicina, compus rezultat în urma acțiunii GGT, prezintă capacitatea de a reduce F^{3+} la Fe^{2+} , care stă la baza generării stresului oxidativ (81). Totuși prezența fierului activ este rară *in vivo* (82). Contrar studiului nostru, Lee și colab. au arătat că nivelul GGT se corelează invers proporțional cu nivelul carotenoizilor (alfa caroten și beta caroten), concluzionând că ar putea fi privită ca un marker de stres oxidativ (81).

Rezultatele noastre sugerează că GGT poate fi încadrat în clasa markerilor antioxidanți la pacienții cu HVC, având în vedere și corelația pozitivă cu TAC în grupul pacienților cu LP și HVC și al celor doar cu HVC.

5.1.5. Metilarea argininei

Am obținut un nivel seric de SDMA care a crescut progresiv de la grupul control (grupul D) către grupul A. S-au identificat diferențe semnificative statistic atât între grupurile de pacienți (grupurile A, B, C) în raport cu grupul control (grupul D), cât și între grupurile de pacienți, exceptând între grupurile A și B. Rezultatele sunt similare cu cele obținute în cazul nivelului seric de MDA, sugerând că cei doi markeri cresc în urma asocierii LP și HVC mai mult decât alți markeri de stres oxidativ. Am investigat dacă există corelații între SDMA și markerii peroxidării lipidice. Am obținut corelații pozitive atât între 4-HNE și SDMA, cât și MDA și SDMA, dar semnificația statistică a fost prezentă doar între MDA și SDMA. Rezultatele obținute arată că peroxidarea lipidică exprimată prin MDA și metilarea argininei având ca

reprezentant SDMA dețin un important rol în patogeneza celor două afecțiuni. În plus, asocierea dintre LP și HVC are drept consecință amplificarea stresului oxidativ.

Majoritatea cercetărilor s-au concentrat pe studiul ADMA, fiind considerată în special un marker al afecțiunilor cardiovasculare și al bolilor renale cronice. Recent cercetările s-au îndreptat și către analiza izomerului său structural, SDMA, care era considerat un metabolit inert fără implicații patologice (83). Studiile recente sugerează că SDMA și ADMA sunt implicate în variate procese biologice precum stres oxidativ, inflamație, apoptoză, disfuncție endotelială, etc. SDMA prezintă efecte proinflamatorii și prooxidante. SDMA crește expresia markerilor de diferențiere și adeziune la nivelul monocitelor și granulocitelor, stimulând aderarea acestora la nivel endotelial. În plus induce producerea de SRO prin creșterea influxului de calciu în monocite și stimularea activității NADPH oxidazei (84).

Având în vedere aceste ultime cercetări am considerat că studiul SDMA în LP și HVC ar putea aduce informații prețioase care să ofere noi căi de investigare cu privire la mecanismele implicate în cele două afecțiuni și asocierii între ele.

În lumina rezultatelor prezentate SDMA ar putea fi considerată un marker de stres oxidativ atât în LP, cât și HVC, dar studii suplimentare, pe grupuri mai mari de pacienți sunt necesare. Astfel acest studiu este primul care investighează acest marker în patogeneza LP și HVC. Aprofundarea procesului de metilare a argininelor în patogeneza celor două afecțiuni ar putea sta la baza identificării de noi căi implicate atât în mecanismele care stau la baza apariției și evoluției celor două afecțiuni cât și a asocierii lor.

5.1.6. Statusul unor oligoelemente și metaloproteine în stresul oxidativ

Determinările noastre cu privire la nivelurile serice de Fe nu au variat semnificativ în grupurile de pacienți studiate în raport cu grupul control. În plus nu s-au obținut corelații semnificative cu markerii de peroxidare lipidică. În acest context rezultatele noastre sugerează că în cazul LP, fierul nu deține un rol important în producerea de SRO. În plus fierul nu pare să fie implicat nici în stadiile inițiale ale infecției cu VHC.

Metalele dețin numeroase roluri în diferite procese biologice. Metalele reglează activitatea unor gene, interferând cu variate căi de semnalizare în ciclul celular și apoptoză. În homeostazia redox, metalele dețin un rol cheie. Principalele metale redox active sunt fierul, cuprul, cromul și cobaltul. Metalele redox active participă la reacții de transfer al electronilor

între metale și substrat, contribuind astfel la menținerea homeostaziei redox. Alterarea homeostaziei redox are drept rezultat generarea SRO (85).

Fierul este implicat în numeroase procese fiziologice și fiziopatologice intrând în componența unui număr mare de enzime, precum oxidaze și oxigenaze (86). În literatura medicală sunt disponibile studii asupra oligoelementelor la pacienții cu LP oral. Însă nici aceste studii nu au identificat implicarea fierului în patogeneza LP. Rezazadeh și colab. au investigat o paletă mai largă de oligoelemente (Mg, Ca, Fe, Cu, Zn) la pacienți cu LP oral. Singurul oligoelement care a prezentat diferențe semnificative statistic între pacienții cu LP oral și grupul control a fost Mg, astfel nivelul salivar de Mg a fost scăzut la pacienții cu LP oral (87). Un alt studiu recent a arătat cantități crescute de Cu și Zn în saliva pacienților cu leziuni orale premaligne, inclusiv LP oral (88). În studiul nostru nu s-au observat diferențe semnificative cu privire la nivelul seric de Cu între grupuri, similar cu determinările în ceea ce privește nivelul seric de fier.

Cuprul este un oligoelement care se găsește într-o varietate de țesuturi, cea mai mare concentrație fiind identificată în țesutul hepatic (89). Cuprul acționează drept un cofactor, fiind necesar în activitatea a numeroase enzime, inclusiv enzime precum Cu Zn-SOD, care dețin un rol cheie în stresul oxidativ (90). În plus, creșterea peroxidării lipidice a fost observată la pacienți cu deficit plasmatic de Cu (89).

Studiul realizat de Guo și colab. a abordat aceleași trei direcții de cercetare urmărite și în studiul nostru, și anume, statusul unor oligoelemente, stresul oxidativ și procesul inflamator, la pacienți cu anticorpi anti-VHC prezenți. Prin raportare la un grup control, pacienții cu anticorpi anti-VHC prezenți au prezentat un nivel seric scăzut de zinc și concentrații serice crescute de Cu, Fe, Pb, Cd și Al. În ceea ce privește balanța prooxidanți - antioxidanți, nivelul de MDA a înregistrat valori crescute în asociere cu scăderea activității enzimelor antioxidante (GPx, CAT și SOD). De asemenea nivelurile serice de feritină și hsCRP au prezentat valori ridicate. Nivelul de MDA s-a corelat cu concentrațiile oligoelementelor studiate. A fost emisă ipoteza că modificări ale nivelului oligoelementelor pot contribui la stimularea stresului oxidativ și a procesului inflamator (91). În cercetarea doctorală, nivelurile serice ale markerilor de peroxidare lipidică nu s-au corelat cu nivelurile serice de Fe și Cu. Similar nu s-au obținut corelații între markeri peroxidării lipidice și metaloproteinele studiate, feritina, transferina și ceruloplasmina.

Rezultatele noastre arată că metalele redox active nu dețin un rol important în generarea stresului oxidativ în LP și HVC. Este cunoscut faptul că supraîncărcarea cu fier este un factor important care contribuie la producerea de SRO în HVC. Rezultatele noastre trebuie interpretate ținând cont că am inclus în studiu pacienți cu HVC cronică, în stadiu incipient.

Am identificat creșterea progresivă a nivelului seric de feritină dinspre grupul control (grupul D) către grupul pacienților care prezentau atât LP cât și HVC (grupul A). Nivelurile de feritină au fost semnificativ statistic mai crescute în grupurile de pacienți în comparație cu grupul control. În ceea ce privește diferențele dintre grupurile de pacienți, deși nu s-au obținut diferențe semnificative, identificarea unor valori progresiv mai mari sugerează că VHC ar putea fi implicat, dar studii suplimentare pe grupuri mai mari sunt necesare.

Supraîncărcarea cu fier este frecventă la pacienții cu hepatită C cronică. Un nivel ridicat al feritinei serice și creșterea saturației transferinei sunt întâlnite la un procent ridicat dintre pacienții cu hepatită C cronică (92). Nivelul seric crescut de feritină se asociază cu un status inflamator. Un studiu recent a arătat că nivelul seric de feritină se corelează cu prezența steatozei și fibrozei hepatice (93).

Chiou și colab. au studiat dacă statusul oxidativ al pacienților cu hepatită C influențează răspunsul la tratament. S-a observat că un nivel scăzut al feritinei și al TBARS pe de o parte și un nivel crescut al TAC pe de altă parte reprezintă markeri care se asociază cu un răspuns virusologic susținut mai bun. Nivelul crescut al feritinei s-a corelat cu procesul inflamator hepatic (94).

În toate cele 3 grupuri studiate în cadrul cercetării doctorale (grupurile A, B și C), valoarea medie a transferinei a fost mai scăzută în comparație cu grupul control (grupul D), însă fără semnificație statistică. Astfel rezultatele noastre sugerează că transferina nu deține un rol important în producerea stresului oxidativ în cele două afecțiuni studiate, rezultate susținute și de valorile obținute în ceea ce privește nivelul seric de fier.

Transferina transportă fierul în circulație ceea ce face ca fierul să fie menținut într-un stadiu redox inert. Transferina protejează celulele de fierul liber care poate fi foarte toxic (95). Spre deosebire de rezultatele noastre, Falsafi și colab. au identificat un nivel scăzut de transferină la pacienții cu LP oral în comparație cu un grup control (96). Rezultatele contradictorii pot deriva din faptul că noi am inclus pacienți cu hepatită C în stadiu incipient.

În ceea ce privește nivelul seric de ceruloplasmină, în studiul nostru valoarea medie cea mai mică a fost identificată la pacienții cu LP și HVC (grupul A). Valorile medii în grupurile B și C în care pacienții prezentau doar una dintre afecțiuni, hepatită C, respectiv LP, au fost similare și ușor mai crescute în comparație cu grupul A. În toate cele 3 grupuri A, B și C s-au identificat valori medii mai scăzute în raport cu grupul control (grupul D), dar o diferență semnificativă statistic a fost doar în cazul grupului A, rezultat ce susține ipoteza unui dezechilibru mai accentuat între prooxidanți și antioxidanți la pacienții care prezintă cele două afecțiuni.

Ceruloplasmina este o glicoproteină care conține cupru și prezintă variate roluri în organism incluzând, transportor al cuprului, feroxidază, antioxidant, iar în ceea ce privește inflamația poate avea rol dual, atât proinflamator cât și antiinflamator. Efectul antioxidant și antiinflamator derivă din activitatea sa de feroxidază, catalizând oxidarea fierului, iar efectul proinflamator și prooxidant derivă din participarea ceruloplasminei la formarea radicalului hidroxil și oxidarea lipidelor (97).

Un studiu recent a analizat nivelul salivar și seric de ceruloplasmină la pacienți cu LP oral și a identificat un nivel crescut în comparație cu grupul control (98). Pe de altă parte un alt studiu a cercetat markeri de stres oxidativ inclusiv ceruloplasmina la pacienți cu hepatită C cronică. Nivelul seric al ceruloplasminei a fost semnificativ statistic mai mic la pacienții cu hepatită C cronică, în comparație cu grupul control. În plus, statusul antioxidant total a fost scăzut, iar statusul oxidant total a fost crescut prin raportare la grupul control, autorii concluzionând că stresul oxidativ este implicat în patogeneza hepatitei C contribuind inclusiv la evoluția bolii (99).

Cercetarea noastră arată rezultate diferite în ceea ce privește homeostazia fierului și cuprului. Astfel, desi nivelul seric de fier nu a înregistrat modificări semnificative, feritina ar putea fi considerată un marker de stres oxidativ atât în LP, cât și HVC.

5.1.7. Statusul antioxidant

În cursul cercetării doctorale, în cadrul celor 4 grupuri studiate s-a identificat creșterea progresivă a nivelului seric al TAC, de la grupul A către grupul D. Astfel în cazul pacienților care prezentau ambele afecțiuni s-au identificat cele mai mari modificări în ceea ce privește apărarea antioxidantă în raport cu grupul control. Determinările noastre au arătat corelații

negative moderat-puternice între nivelurile serice ale markerilor de peroxidare lipidică, AGEs, și SDMA în raport cu TAC. În schimb, în ceea ce privește nivelurile serice de 8-OHdG, s-au obținut corelații negative slabe. Nivelul seric de GGT s-a corelat pozitiv cu TAC. Rezultatele obținute denotă că apărarea antioxidantă este alterată atât în LP cât și HVC, iar în cazul asocierii dintre LP și HVC, există cel mai mare dezechilibru dintre prooxidanți și antioxidanți. Corelația negativă dintre TAC și SDMA este un argument suplimentar pentru care SDMA ar putea fi privită drept un marker de stres oxidativ atât în LP, cât și HVC.

Antioxidanții sunt implicați în scăderea stresului oxidativ și în prevenirea leziunilor celulare rezultate în urma acțiunii SRO. Sistemele antioxidante previn formarea SRO, le blochează activitatea sau capturează radicalii liberi. Pe de altă parte sistemele antioxidante intervin în repararea alterărilor produse în urma acțiunii SRO la nivelul diverselor componente celulare, astfel leziunile de la nivelul ADN sunt îndreptate prin intermediul enzimelor, proteinele oxidate sunt îndepărtate de sistemele proteolitice, iar fosfolipazale și acil-transferazele repară lipidele oxidate (100). În condiții fiziologice, balanța între prooxidanți și antioxidanți, înclină în favoarea prooxidanților (100).

Rezultatele noastre sunt susținute de numeroase studii, care s-au focusat în special pe studiul antioxidanților la pacienți cu LP oral, atât a antioxidanților de origine endogenă cât și exogenă. Studiul realizat de Battino și colab. a determinat o serie de compuși cu rol antioxidant, incluzând acidul uric, albumina, GGT în serul și saliva pacienților cu LP oral. Activitatea GGT a fost ridicată, autorii considerând că ar putea reprezenta un mecanism de apărare în fața stresului oxidativ și nivelul seric de GGT ar putea fi privit ca un marker de stres oxidativ pentru monitorizarea evoluției și eficacității tratamentului. În ceea ce privește nivelurile serice și salivare ale albuminei și acidului uric nu s-au obținut diferențe semnificative între grupul control și pacienții cu LP oral (22).

Sunt disponibile studii care atestă alterarea apărării antioxidante și în HVC. Un studiu recent a investigat balanța redox la pacienți cu HVC, infectați cu genotipuri diferite. Determinările au arătat scăderea TAC, cea mai evidentă alterare fiind la pacienții infectați cu genotip 2. Nu s-au identificat corelații între statusul antioxidant și nivelul transaminazelor, viremie și fibroză (101). Cercetări recente au arătat că utilizarea unei terapii adjuvante cu antioxidanți la pacienții cu HVC are ca rezultat atenuarea procesului de oxidare a proteinelor, creșterea concentrației serice de glutatation și scăderea activității enzimelor antioxidante (102).

Datele noastre susțin utilitatea terapiei cu antioxidanți în afecțiunile caracterizate de un dezechilibru între prooxidanți și antioxidanți. Terapiile adjuvante cu antioxidanți ar putea deține un rol important în tratarea unor astfel de afecțiuni, prin restabilirea homeostaziei locale și reglarea proceselor celulare mediate de statusul redox.

5.1.8. Statusul proinflamator

În studiul nostru, nivelul seric al hsCRP a prezentat cea mai mare valoare în grupul A, observându-se o scădere progresivă către grupul D. Nivelul seric al hsCRP a fost semnificativ statistic mai mare în grupurile A, B și C în comparație cu grupul D. În plus, a existat o diferență semnificativă statistic între pacienții cu LP și HVC (grupul A) și pacienții cu LP (grupul C), rezultate ce ar putea atribui virusului un rol în creșterea procesului inflamator prezent în LP.

Un grad crescut de inflamație poate fi detectat în multe afecțiuni. Dar pentru a pune în evidență acest fapt, este necesară măsurarea CRP hipersensibile și nu detectarea nivelului de CRP prin metoda clasică. Astfel Sinikumpu și colab. au analizat 1.930 de adulți și au observat că afecțiuni dermatologice precum rozaceea, dermatita atopică, onicomicoza se asociază cu niveluri crescute ale hsCRP (103). Studiul realizat de Candel și colab. atribuie un rol important TNF alfa în patogeneza LP. Producția crescută de TNF alfa se asociază cu dezvoltarea unui proces inflamator cronic sau apariția bolilor autoimune. Pe de altă parte se pare că depleția de TNF alfa are drept rezultat apariția inflamației la nivel cutanat și proliferarea keratinocitelor prin creșterea producției de dual oxidază 1 (DUOX-1). Semnalizarea TNF alfa/TNFR2 protejează pielea față de stres oxidativ în leziuni de LP. Blocarea farmacologică sau genetică a DUOX-1 ar putea facilita restaurarea homeostaziei cutanate în LP (104).

Alterarea markerilor de stres oxidativ a fost pusă în evidență și în studiul condus de Abdolsamadi care propune stresul oxidativ drept “un eveniment patogen primar” în patogeneza LP oral. În același timp sugerează că stresul oxidativ poate fi rezultatul unui proces inflamator cronic (25). Un studiu care a inclus pacienți cu hepatită C cronică a arătat un nivel seric crescut de hsCRP. Nu s-a observat nicio corelație între nivelul de hsCRP și factori virusologici sau histopatologici. În urma terapiei cu interferon alfa pegilat și ribavirină administrată oral, nivelul seric de hsCRP a scăzut semnificativ (105).

Rezultatele obținute în studiul nostru sugerează că atât LP cât și HVC se caracterizează printr-un status proinflamator și că infecția cu VHC amplifică procesul inflamator la pacienții

cu LP ceea ce poate contribui la creșterea producerii de SRO, cele două procese fiind interconectate.

6. Concluzii

1. Screening-ul pacienților cu LP a arătat că infecția cu VHC este prezentă în 10% dintre cazuri, iar infecția cu VHB este prezentă în 3,59% dintre cazuri. În populația generală statisticile arată că prevalența HVB este de 4,4%, iar a HVC de 3,2%. Astfel studiul nostru sugerează că există o asociere între LP și HVC, dar infirmă asocierea dintre LP și HVB. În populația generală statisticile arată că prevalența HVB este de 4,4%, iar a HVC de 3,2%. Astfel studiul nostru sugerează că există o asociere între LP și HVC, dar nu susține asocierea dintre LP și HVB.

2. Nu s-au observat diferențe semnificative în ceea ce privește formele de LP oral și pilar la pacienții cu LP, fără HVC în comparație cu pacienții cu LP și HVC.

3. HVC și LP se caracterizează prin degradare oxidativă a ADN, măsurată prin nivelul seric de 8-hidroxi-2-deoxiguanozina (8-OHdG). Asocierea celor două afecțiuni nu a amplificat semnificativ procesul de alterare oxidativă la nivelul ADN, însă s-a observat o creștere progresivă care a arătat că cea mai mică valoare medie a 8-OHdG a fost înregistrată la pacienții cu LP, urmată de cei cu HVC și în cele din urmă pacienții cu LP și HVC.

4. Formarea speciilor carbonil este un eveniment important în patogeneza infecției cu VHC, dar și a LP. Toți cei trei markeri investigați, malondialdehida (MDA), 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE) și substanțele reactive ale acidului tiobarbituric (TBARS) au prezentat valori medii semnificativ statistic mai crescute în grupurile de pacienți în comparație cu grupul control. Aceste rezultate sugerează că ambele afecțiuni se caracterizează prin peroxidare lipidică importantă.

5. Dintre markerii de peroxidare lipidică, nivelul seric de MDA a înregistrat valori semnificativ statistic mai mari între pacienții cu LP și HVC și pacienții doar cu HVC. Astfel amplificarea peroxidării lipidice exercitate de VHC la pacienții cu LP a fost exprimată în special prin nivelul seric de MDA.

6. Dinamica procesului de glicare a prezentat un model diferit în cadrul celor două afecțiuni. Mecanismele citoprotectoare exprimate prin nivelul scăzut a forme solubile a receptorului pentru produșii finali de glicare avansată (sRAGE) în asociere cu un nivel seric de produși finali de glicare avansată (AGEs) nesemnificativ statistic mai mare în comparație cu

grupul control erau prezente la pacienții cu HVC, la care afecțiunea evolua de o perioadă mai îndelungată. În schimb la pacienții cu LP s-a detectat acumularea AGEs fără declanșarea mecanismelor citoprotectoare.

7. Nivelul seric de gamma-glutamyltransferaza (GGT) nu poate fi considerat un marker de stres oxidativ în cazul LP. Totuși asocierea dintre LP și HVC a condus la amplificarea procesului de gamma-glutamilară. Asocierea pozitivă între GGT și capacitatea antioxidantă totală (TAC) în grupul pacienților cu LP și HVC și grupul pacienților doar cu HVC sugerează că GGT ar putea fi considerată o enzimă cu efect antioxidant la pacienții cu HVC cronică, în stadiu incipient.

8. Metilarea argininelor poate fi un element important în patogeneza LP și HVC. Dimetil metilarginina simetrică (SDMA) ar putea reprezenta un marker de stres oxidativ atât în LP, cât și în HVC. Acest fapt este susținut și de corelația negativă între SDMA și TAC, atât în serul pacienților cu LP cât și cu HVC. Nivelul seric de SDMA este amplificat la pacienții cu LP de prezența infecției cu VHC.

9. Peroxidarea lipidelor și metilarea argininelor pot fi două procese interconectate atât în LP cât și în HVC. Corelațiile dintre SDMA și markerii de peroxidare lipidică au fost moderat-puternic negative în grupurile de pacienți studiate.

10. Metilarea argininelor, exprimată prin nivelul seric de SDMA și peroxidarea lipidelor exprimată prin nivelul seric de MDA sunt procesele care au fost semnificativ statistic amplificate de prezența infecției cu VHC, la pacienții cu LP. Restul markerilor de stres oxidativ au înregistrat creșteri progresive de la grupul control către grupul pacienților cu ambele afecțiuni și deși fără semnificație statistică sugerează influența infecției cu VHC asupra statusului redox la pacienții cu LP în toate direcțiile studiate.

11. Oligoelemente precum fierul și cuprul nu par să fie implicate în patogeneza LP și HVC. Nu s-au înregistrat modificări semnificative în niciuna dintre afecțiunile studiate.

12. Dintre metaloproteinele conexe oligoelementelor studiate (ferritina, transferina și ceruloplasmina), ferritina a înregistrat modificări semnificative. Ferritina ar putea fi considerată un marker de stres oxidativ atât la pacienții cu LP, cât și la cei cu HVC.

13. Ambele afecțiuni studiate se caracterizează printr-un status proinflamator exprimat prin nivelul seric crescut de - proteina C reactivă cu sensibilitate crescută (hsCRP). Statusul

proinflamator a fost amplificat de prezența infecției cu VHC la pacienții cu LP, dar fără semnificație statistică.

14. Apărarea antioxidantă, măsurată prin nivelul seric de TAC, este alterată atât la pacienții cu LP, cât și HVC. Infecția cu VHC a modificat nivelul seric de TAC la pacienții cu LP, dar fără semnificație statistică.

15. Markerii de stres oxidativ studiați, exceptând 8-OHdG s-au corelat negativ cu nivelul seric de TAC în grupurile de pacienți studiate ceea ce indică prezența dezechilibrului dintre prooxidanți și antioxidanți atât în patogeneza LP cât și a HVC.

16. Atât LP cât și HVC se caracterizează printr-un dezechilibru între prooxidanți și antioxidanți în favoarea prooxidanților. Aceste rezultate pot sta la baza elaborării unor noi terapii pentru tratarea acestor două afecțiuni.

17. Investigarea mecanismelor patogenice care stau la baza asocierii dintre LP și HVC necesită o echipă multidisciplinară, bazându-se pe colaborarea dintre medici dermatologi, infecționiști și de laborator.

7. Originalitatea studiului

1. Studiul de față este primul studiu care investighează influența VHC asupra balanței redox la pacienți cu LP cutanat.

2. În literatura medicală sunt studii care atestă prezența stresului oxidativ atât în HVC, cât și LP. Dar majoritatea studiilor disponibile investighează un număr limitat de markeri de stres oxidativ. Studiul de față este primul care expune o paletă largă de markeri de stres oxidativ, investigați atât în LP, cât și HVC. A fost investigat stresul oxidativ din perspectiva celor patru ținte principale ale speciilor reactive de oxigen și anume, acizii nucleici, lipidele, glucidele și proteinele.

3. Este primul studiu care analizează formarea speciilor carbonil reactive, incluzând 4-HNE la pacienți cu LP cutanat și HVC.

4. Este primul studiu care investighează statusul unor oligoelemente și metaloproteine în corelație cu markeri ai peroxidării lipidice la pacienți cu LP cutanat. Studiile disponibile în literatura medicală includ pacienți cu LP oral.

5. Nu sunt disponibile date în literatura medicală privind rolul axei AGEs-sRAGE în patogeneza LP cutanat. Astfel este primul studiu care analizează acești markeri la pacienți cu LP.

6. Este primul studiu care investighează metilarea argininelor, măsurată prin nivelul seric de SDMA, atât la pacienți cu LP, cât și cu HVC și pune în evidență corelarea sa pozitivă cu markeri ai peroxidării lipidice.

7. Este primul studiu realizat în România care investighează stresul oxidativ incluzând o gamă largă de markeri în LP și HVC.

❖ **Limitele studiului**

1. Grupurile studiate au inclus un număr mic de pacienți, în ciuda eforturilor susținute depuse, în etapa de selecție a pacienților. Variabilele măsurate pot fi influențate de o gamă largă de factori, prin urmare criteriile de includere și excludere sunt foarte stricte. În plus trebuie avut în vedere că LP nu face parte dintre cele mai frecvente afecțiuni dermatologice, iar asocierea cu HVC restrânge suplimentar grupul de studiu. Am inclus în cercetarea doctorală doar pacienți cu LP confirmat histopatologic, iar biopsia cutanată nu este acceptată de toți pacienții. În ceea ce privește pacienții cu HVC, foarte puțini dintre aceștia sunt investigați într-un serviciu medical în fazele incipiente ale bolii, având în vedere evoluția indolentă a infecției pentru perioade lungi de timp. La aceste limitări se adaugă și factorul economic.

2. Studiul realizat a fost unicentric. Este utilă realizarea unui studiu multicentric, care oferă posibilitatea de generalizare a rezultatelor obținute.

Bibliografie

1. Marshman G. Lichen planus. *Australas J Dermatol.* 1998;39(1):1–13.
2. Weston G, Payette M. Update on lichen planus and its clinical variants. *Int J Womens Dermatol.* 2015;1(3):140–9.
3. Georgescu SR, Tampa M, Mitran MI, Mitran CI, Sarbu MI, Nicolae I, et al. Potential pathogenic mechanisms involved in the association between lichen planus and hepatitis C virus infection. *Exp Ther Med.* 2019;17(2):1045–51.
4. Penagos L, Calle L, Santos Ó. Extrahepatic Manifestations of Hepatitis B. *Rev Colomb Gastroenterol.* 2016;31(3):283–7.

5. Negro F. Natural History of Hepatic and Extrahepatic Hepatitis C Virus Diseases and Impact of Interferon-Free HCV Therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2019;a036921.
6. Al-Khenaizan S. Lichen planus occurring after hepatitis B vaccination: a new case. *J Am Acad Dermatol.* 2001;45(4):614–5.
7. Calista D, Morri M. Lichen planus induced by hepatitis B vaccination: a new case and review of the literature. *Int J Dermatol.* 2004;43(8):562–4.
8. Agrawal A, Shenoi SD. Lichen planus secondary to hepatitis B vaccination. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2004;70(4):234–5.
9. Ebrahimi M, Nylander K, van der Waal I. Oral lichen planus and the p53 family: what do we know? *J Oral Pathol Med.* 2011;40(4):281–5.
10. Wiznia LE, Laird ME, Franks AG. Hepatitis C virus and its cutaneous manifestations: treatment in the direct-acting antiviral era. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2017;31(8):1260–70.
11. Sugerman PB, Savage NW. Oral lichen planus: causes, diagnosis and management. *Aust Dent J.* 2002;47(4):290–7.
12. Fachinelli LR, Silva EC, Figueiredo MG, Possa MS, Pelegrinelli FF, Molina RJ. Hepatitis C and cutaneous alterations. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2012;45(6):770–3.
13. Zhang Z, Rong L, Li Y-P. Flaviviridae Viruses and Oxidative Stress: Implications for Viral Pathogenesis. *Oxid Med Cell Longev.* 2019; 2019:1409582.
14. Ergun S, Troşala ŞC, Warnakulasuriya S, Özel S, Önal AE, Ofluoğlu D, et al. Evaluation of oxidative stress and antioxidant profile in patients with oral lichen planus: Oxidative stress and antioxidant profile in OLP. *J Oral Pathol Med.* 2011;40(4):286–93.
15. Sezer E, Ozugurlu F, Ozyurt H, Sahin S, Etikan I. Lipid peroxidation and antioxidant status in lichen planus. *Clin Exp Dermatol.* 2007;32(4):430–4.
16. Sander CS, Cooper SM, Ali I, Dean D, Thiele JJ, Wojnarowska F. Decreased antioxidant enzyme expression and increased oxidative damage in erosive lichen planus of the vulva. *Int J Obstet Gynaecol.* 2005;112(11):1572–5.
17. Scrobota I, Mocan T, Bolf P, Mure A. Histopathological aspects and local implications of oxidative stress in patients with oral lichen planus. *Rom J Morphol Embryol.* 2011;52(4):1305-9.
18. Shakibaei M, Schulze-Tanzil G, Takada Y, Aggarwal BB. Redox Regulation of Apoptosis by Members of the TNF Superfamily. *Antioxid Redox Signal.* 2005;7(3–4):482–96.
19. Barikbin B, Yousefi M, Rahimi H, Hedayati M, Razavi SM, Lotfi S. Antioxidant status in patients with lichen planus. *Clin Exp Dermatol.* 2011;36(8):851–4.
20. Darczuk D, Krzysciak W, Vyhouskaya P, Kesek B, Galecka-Wanatowicz D, Lipska W, et al. Salivary oxidative status in patients with oral lichen planus. *J Physiol Pharmacol.* 2016; 67(6):885–94.
21. Aly DG, Shahin RS. Oxidative stress in lichen planus. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 2010;19(1):3-11.
22. Battino M, Greabu M, Totan A, Mohora M, Bullon P, Bucur A, et al. Oxidative stress markers in oral lichen planus. *BioFactors.* 2008;33(4):301–10.

23. Shirzad A, Pouramir M, Seyedmajidi M, Jenabian N, Bijani A, Motallebnejad M. Salivary Total Antioxidant Capacity and Lipid Peroxidation in Patients with Erosive Oral Lichen Planus. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2014;8(1):35-9
24. Panchal FH, Ray S, Munshi RP, Bhalerao SS, Nayak CS. Alterations in Lipid Metabolism and Antioxidant Status in Lichen Planus. *Indian J Dermatol*. 2015;60(5):439–44.
25. Abdolsamadi H, Rafeian N, Goodarzi MT, Feradmal J, Davoodi P, Jazayeri M, et al. Levels of Salivary Antioxidant Vitamins and Lipid Peroxidation in Patients with Oral Lichen Planus and Healthy Individuals. *Chonnam Med J*. 2014;50(2):58.
26. Nicolae I, Mitran CI, Mitran MI, Ene CD, Tampa M, Georgescu SR. Ascorbic acid deficiency in patients with lichen planus. *J Immunoassay Immunochem*. 2017;38(4):430–7.
27. Alavian SM, Showraki A. Hepatitis B and its Relationship With Oxidative Stress. *Hepat Mon*. 2016;16(9):e37973.
28. Feng J, Yang Y, Wang D, Tang J, Xie G, Fan L. Relationship between oxidative stress in patients with HBV-induced liver disease and HBV genotype/drug-resistant mutation. *Front Lab Med*. 2017;1(4):211–6.
29. Ivanov AV, Valuev-Elliston VT, Tyurina DA, Ivanova ON, Kochetkov SN, Bartosch B, et al. Oxidative stress, a trigger of hepatitis C and B virus-induced liver carcinogenesis. *Oncotarget*. 2017;8(3):3895-3932.
30. Hsieh Y-H. Pre-S mutant surface antigens in chronic hepatitis B virus infection induce oxidative stress and DNA damage. *Carcinogenesis*. 2004;25(10):2023–32.
31. Sevastianos VA, Voulgaris TA, Dourakis SP. Hepatitis C, systemic inflammation and oxidative stress: correlations with metabolic diseases. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2020;14(1):27–37.
32. Seronello S, Sheikh MY, Choi J. Redox regulation of hepatitis C in nonalcoholic and alcoholic liver. *Free Radic Biol Med*. 2007;43(6):869–82.
33. Choi J, Corder NLB, Koduru B, Wang Y. Oxidative stress and hepatic Nox proteins in chronic hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Free Radic Biol Med*. 2014;72:267–84.
34. Ruggieri A, Anticoli S, Nencioni L, Sgarbanti R, Garaci E, Palamara A. Interplay between Hepatitis C Virus and Redox Cell Signaling. *Int J Mol Sci*. 2013;14(3):4705–21.
35. Choi J. Oxidative stress, endogenous antioxidants, alcohol, and hepatitis C: pathogenic interactions and therapeutic considerations. *Free Radic Biol Med*. 2012;52(7):1135–50.
36. Hino K, Hara Y, Nshina S. Mitochondrial reactive oxygen species as a mystery voice in hepatitis C. *Hepatol Res*. 2014;44(2):123-32
37. Fujita N, Horiike S, Sugimoto R, Tanaka H, Iwasa M, Kobayashi Y, et al. Hepatic oxidative DNA damage correlates with iron overload in chronic hepatitis C patients. *Free Radic Biol Med*. 2007;42(3):353–62.
38. Dikici I, Mehmetoglu I, Dikici N, Bitirgen M, Kurban S. Investigation of oxidative stress and some antioxidants in patients with acute and chronic viral hepatitis B and the effect of interferon- α treatment. *Clin Biochem*. 2005;38(12):1141–4.

39. Arciello M, Gori M, Balsano C. Mitochondrial Dysfunctions and Altered Metals Homeostasis: New Weapons to Counteract HCV-Related Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:971024.
40. Lozano-Sepulveda SA. Oxidative stress modulation in hepatitis C virus infected cells. *World J Hepatol*. 2015;7(29):2880.
41. Paracha U, Fatima K, Alqahtani M, Chaudhary A, Abuzenadah A, Damanhour G, et al. Oxidative stress and hepatitis C virus. *Virol J*. 2013;10(1):251.
42. European Centre for Disease Prevention and Control. Systematic review on hepatitis B and C prevalence in the EU/EEA. Stockholm. ECDC. 2016.
43. Alaizari N, Al-Maweri S, Al-Shamiri H, Tarakji B, Shugaa-Addin B. Hepatitis C virus infections in oral lichen planus: a systematic review and meta-analysis. *Aust Dent J*. 2016;61(3):282–7.
44. Agha-Hosseini F, Mirzaii-Dizgah I, Farmanbar N, Abdollahi M. Oxidative stress status and DNA damage in saliva of human subjects with oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2012;41(10):736–40.
45. Wagner G, Rose C, Sachse MM. Clinical variants of lichen planus: Lichen planus. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2013;11(4):309–19.
46. Azizi A, Farshchi F. Comparison of salivary and plasma antioxidant levels in lichen planus patients and healthy subjects. *J Oral Pathol Med*. 2012;41(7):524–6.
47. Manomaivat T, Pongsiriwet S, Kuansuwan C, Thosaporn W, Tachasuttirut K, Iamaroon A. Association between hepatitis C infection in Thai patients with oral lichen planus: A case-control study. *J Investig Clin Dent*. 2018;9(2):e12316.
48. Gorouhi F, Davari P, Fazel N. Cutaneous and Mucosal Lichen Planus: A Comprehensive Review of Clinical Subtypes, Risk Factors, Diagnosis, and Prognosis. *Sci World J*. 2014;2014:1–22.
49. Mitchell CL. Oxidative stress and the skin. In: *Oxidative Stress and Antioxidant Protection*. John Wiley & Sons, Ltd; 2016:167-82.
50. Kruk J, Duchnik E. Oxidative stress and skin diseases: possible role of physical activity. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(2):561–8.
51. Shah AA, Sinha AA. Oxidative stress and autoimmune skin disease. *Eur J Dermatol*. 2013;23(1):5–13.
52. Camini FC, da Silva Caetano CC, Almeida LT, de Brito Magalhães CL. Implications of oxidative stress on viral pathogenesis. *Arch Virol*. 2017;162(4):907–17.
53. Betteridge DJ. What Is Oxidative Stress? *Metab Clin Exp*. 2000;49(2):3-8.
54. Wu LL, Chiou CC, Chang PY, Wu JT. Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2004;339(1–2):1–9.
55. Pilger A, Rüdiger HW. 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine as a marker of oxidative DNA damage related to occupational and environmental exposures. *Int Arch Occup Environ Health*. 2006;80(1):1–15.

56. Qing X, Shi D, Lv X, Wang B, Chen S, Shao Z. Prognostic significance of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in solid tumors: a meta-analysis. *BMC Cancer*. 2019;19(1):997.
57. Kaur J, Politis C, Jacobs R. Salivary 8-hydroxy-2-deoxyguanosine, malondialdehyde, vitamin C, and vitamin E in oral pre-cancer and cancer: diagnostic value and free radical mechanism of action. *Clin Oral Investig*. 2016;20(2):315–9.
58. Kumar A, Pant MC, Singh HS, Khandelwal S. Assessment of the redox profile and oxidative DNA damage (8-OHdG) in squamous cell carcinoma of head and neck. *J Cancer Res Ther*. 2012;8(2):254–9.
59. Chuma M, Hige S, Nakanishi M, Ogawa K, Natsuizaka M, Yamamoto Y, et al. 8-Hydroxy-2'-deoxy-guanosine is a risk factor for development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008;23(9):1431–6.
60. Mitran CI, Nicolae I, Tampa M, Mitran MI, Caruntu C, Sarbu MI, et al. The Relationship between the Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products and Oxidative Stress in Patients with Palmoplantar Warts. *Medicina*. 2019;55(10):706.
61. Mitran MI, Mitran CI, Tampa M, Nicolae I, Sarbu MI, Matei C, Georgescu SR, Popa MI. Oxidative stress as a cofactor in the relationship between lichen planus and hepatitis C virus infection. 49th Annual ESDR meeting, Bordeaux, France, 18-21 September, 2019, published in *J Investig Dermatol*. 2019;139:143.
62. Nicolae I, Mitran MI, Mitran CI, Tampa M; Sarbu MI, Popa GL, Dragomirescu CC, Popa MI, Georgescu SR. The role of HCV infection on the redox balance in lichen planus patients. 49th Annual ESDR meeting, Bordeaux, France, 18-21 September, 2019, published in *J Investig Dermatol*. 2019;139:374.
63. Barrera G, Pizzimenti S, Ciamporcero ES, Daga M, Ullio C, Arcaro A, et al. Role of 4-Hydroxynonenal-Protein Adducts in Human Diseases. *Antioxid Redox Signal*. 2015; 22(18):1681–702.
64. Hardt U, Larsson A, Gunnarsson I, Clancy RM, Petri M, Buyon JP, et al. Autoimmune reactivity to malondialdehyde adducts in systemic lupus erythematosus is associated with disease activity and nephritis. *Arthritis Res Ther*. 2018;20(1):36.
65. Hassan I, Keen A, Majid S, Hassan T. Evaluation of the antioxidant status in patients of lichen planus in Kashmir valley – A hospital based study. *J Saudi Soc Dermatol Dermatol Surg*. 2013;17(1):13–6.
66. Khedr MA, El-Araby HA, Konsowa HA-S, Sokar SS, Mahmoud MF, Adawy NM, et al. Glutathione peroxidase and malondialdehyde in children with chronic hepatitis C. *Clin Exp Hepatol*. 2019;5(1):81–7.
67. Mitran MI, Nicolae I, Tampa M, Mitran CI, Caruntu C, Sarbu MI, et al. Reactive Carbonyl Species as Potential Pro-Oxidant Factors Involved in Lichen Planus Pathogenesis. *Metabolites*. 2019;9(10).
68. Breitzig M, Bhimineni C, Lockey R, Kolliputi N. 4-Hydroxy-2-nonenal: a critical target in oxidative stress? *Am J Physiol Cell Physiol*. 2016;311(4):C537–43.

69. Paradis V, Mathurin P, Kollinger M, Imbert-Bismut F, Charlotte F, Piton A, et al. In situ detection of lipid peroxidation in chronic hepatitis C: correlation with pathological features. *J Clin Pathol*. 1997;50(5):401–6.
70. Tampa M, Nicolae I, Ene CD, Sarbu I, Matei C, Georgescu SR. Vitamin C and Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) in Psoriasis Vulgaris Related to Psoriasis Area Severity Index (PASI). *Rev Chim*. 2017;68(1):43-7.
71. Grotto D, Maria LS, Valentini J, Paniz C, Schmitt G, Garcia SC, et al. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Quím Nova*. 2009;32(1):169–74.
72. Domijan A-M, Ralić J, Radić Brkanac S, Rumora L, Žanić-Grubišić T. Quantification of malondialdehyde by HPLC-FL - application to various biological samples. *Biomed Chromatogr*. 2015;29(1):41–6.
73. Prasad K, Mishra M. AGE-RAGE Stress, Stressors, and Antistressors in Health and Disease. *Int J Angiol*. 2018;27(1):1–12.
74. Lohwasser C, Neureiter D, Weigle B, Kirchner T, Schuppan D. The receptor for advanced glycation end products is highly expressed in the skin and upregulated by advanced glycation end products and tumor necrosis factor-alpha. *J Invest Dermatol*. 2006;126(2):291–9.
75. Gkogkolou P, Böhm M. Advanced glycation end products. *Dermatoendocrinol*. 2012;4(3):259–70.
76. Butscheid M, Schäfer C, Brenner S, Alscher D, Mürdter T, Niwa T, et al. Unchanged serum levels of advanced glycation endproducts in patients with liver disease. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2007;375(6):401–6.
77. Basta G, Navarra T, De Simone P, Del Turco S, Gastaldelli A, Filipponi F. What is the role of the receptor for advanced glycation end products-ligand axis in liver injury? *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc*. 2011;17(6):633–40.
78. Moy KA, Jiao L, Freedman ND, Weinstein SJ, Sinha R, Virtamo J, et al. Soluble receptor for advanced glycation end products and risk of liver cancer. *Hepatology Baltim Md*. 2013;57(6):2338–45.
79. Xie J, Méndez JD, Méndez-Valenzuela V, Aguilar-Hernández MM. Cellular signalling of the receptor for advanced glycation end products (RAGE). *Cell Signal*. 2013;25(11):2185–97.
80. Mitran MI, Mitran CI, Tampa M, Nicolae I, Sarbu MI, Matei C, Popa MI, Georgescu SR. Association between oxidative stress and hepatitis C virus infection in patients with lichen planus. 28th EADV Congress, Madrid Spain, 9-13 October, 2019. published in book of abstracts. ISBN 978-88-942552-9-4.
82. Lee D-H, Jacobs DR. Serum gamma-glutamyltransferase: new insights about an old enzyme. *J Epidemiol Community Health*. 2009;63(11):884–6.
83. Kielstein JT, Salpeter SR, Bode-Boeger SM, Cooke JP, Fliser D. Symmetric dimethylarginine (SDMA) as endogenous marker of renal function—a meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21(9):2446–51.
84. Tain Y, Hsu C. Toxic Dimethylarginines: Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) and Symmetric Dimethylarginine (SDMA). *Toxins*. 2017;9(3):92.

85. Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*. 2011;283(2–3):65–87.
86. Puntarulo S. Iron, oxidative stress and human health. *Mol Aspects Med*. 2005;26(4–5):299–312.
87. Rezazadeh F, Salehi S, Rezaee M. Salivary Level of Trace Element in Oral Lichen Planus, A Premalignant Condition. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2019;20(7):2009–13.
88. Ayinampudi BK, Narsimhan M. Salivary copper and zinc levels in oral pre-malignant and malignant lesions. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2012;16(2):178–82.
89. Uriu-Adams JY, Keen CL. Copper, oxidative stress, and human health. *Mol Aspects Med*. 2005;26(4–5):268–98.
90. Gaetke L. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*. 2003;189(1–2):147–63.
91. Guo C-H, Chen P-C, Lin K-P, Shih M-Y, Ko W-S. Trace metal imbalance associated with oxidative stress and inflammatory status in anti-hepatitis C virus antibody positive subjects. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2012;33(2):288–96.
92. Gupta S, Read SA, Shackel NA, Hebbard L, George J, Ahlenstiel G. The Role of Micronutrients in the Infection and Subsequent Response to Hepatitis C Virus. *Cells*. 2019;8(6):E603.
93. Batsaikhan B, Gantumur G, Huang C-I, Yeh M-L, Huang C-F, Lin Z-Y, et al. Elevated serum ferritin level associated with hepatic steatosis and fibrosis in hepatitis C virus-infected patients. *J Chin Med Assoc*. 2019;82(2):99–104.
94. Chiou Y-L, Chen Y-H, Ke T, Ko W-S. The effect of increased oxidative stress and ferritin in reducing the effectiveness of therapy in chronic hepatitis C patients. *Clin Biochem*. 2012;45(16–17):1389–93.
95. Szóke D, Panteghini M. Diagnostic value of transferrin. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2012;413(15–16):1184–9.
96. Falsafi P, Khorshidi-Khiavi R, Ghanizadeh M, Rezaei F, Dolatkhah H, Bahramian A, et al. Salivary Transferrin Levels in Patients with Oral Lichen Planus. *Pesqui Bras Em Odontopediatria E Clínica Integrada*. 2019. 19:e4350.
97. Inoue K, Sakano N, Ogino K, Sato Y, Wang D-H, Kubo M, et al. Relationship between ceruloplasmin and oxidative biomarkers including ferritin among healthy Japanese. *J Clin Biochem Nutr*. 2013;52(2):160–6.
98. Abbas AW, Zaidan TF, Al-Barrak AY. Assessment of serum and salivary ceruloplasmin level in patients with oral lichen planus. *J Baghdad College Dent*. 2014;325(2215):1-5.
99. Duygu F, Koruk ST, Karsen H, Aksoy N, Taskin A, Hamidanoglu M. Prolidase and oxidative stress in chronic hepatitis C. *J Clin Lab Anal*. 2012;26(4):232–7.
100. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem*. 2015;97:55–74.
101. Limongi D, Baldelli S, Santi F, D’Agostini C, Palamara AT, Nencioni L, et al. Redox alteration in patients infected by different HCV genotypes. *Infez Med*. 2018;26(3):249–54.

102. Farias MS, Budni P, Ribeiro CM, Parisotto EB, Santos CEI, Dias JF, et al. Antioxidant supplementation attenuates oxidative stress in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterol Hepatol*. 2012;35(6):386–94.
103. Sinikumpu S-P, Huilaja L, Auvinen J, Jokelainen J, Puukka K, Ruokonen A, et al. The Association Between Low Grade Systemic Inflammation and Skin Diseases: A Cross-sectional Survey in the Northern Finland Birth Cohort 1966. *Acta Derm Venereol*. 2018;98(1):65–9.
104. Candel S, de Oliveira S, López-Muñoz A, García-Moreno D, Espín-Palazón R, Tyrkalska SD, et al. Tnfa signaling through tnfr2 protects skin against oxidative stress-induced inflammation. *PLoS Biol*. 2014;12(5):e1001855.
105. Huang C-F, Hsieh M-Y, Yang J-F, Chen W-C, Yeh M-L, Huang C-I, et al. Serum hs-CRP was correlated with treatment response to pegylated interferon and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C patients. *Hepatol Int*. 2010;4(3):621–7.

Lista cu lucrările științifice publicate

Articole

1. Articole publicate în reviste cotate Clarivate Analytics

1.1 Georgescu SR, Tampa M, **Mitran MI**, Mitran CI, Sarbu MI, Nicolae I, Matei C, Caruntu C, Neagu M, Popa MI. Potential pathogenic mechanisms involved in the association between lichen planus and hepatitis C virus infection. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2019;17(2):1045-1051. (FI: 1.448). (autor corespondent)
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30679967>

1.2. **Mitran MI**, Nicolae I, Tampa M, Mitran CI, Caruntu C, Sarbu MI, Ene CD, Matei C, Georgescu SR, Popa MI. Reactive Carbonyl Species as Potential Pro-Oxidant Factors Involved in Lichen Planus Pathogenesis. *Metabolites*. 2019 Oct;9(10):213. doi: 10.3390/metabo9100213. (FI: 3.303). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31623383>

1.3. Tampa M, Caruntu C, **Mitran MI**, Mitran CI, Sarbu I, Rusu LC, Matei C, Constantin C, Neagu M, Georgescu SR. Markers of Oral Lichen Planus Malignant Transformation. *Disease markers*. 2018; 2018 :1959506. doi: 10.1155/2018/1959506. (FI: 2.761). (contribuții egale)
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29682099>

2. Articole publicate în reviste indexate în baze de date internaționale

2.1. **Mitran MI**, Nicolae I, Tampa M, Mitran CI, Popa MI, Georgescu SR. The prevalence of infection with hepatitis viruses in patients with lichen planus. *Infectio.ro*. 2017;49(1):34-37.
<https://www.medichub.ro/reviste/infectio-ro/prevalenta-infectiei-cu-virusuri-hepatitice-la-pacientii-cu-lichen-plan-id-687-cmsid-67>

Rezumate

1. Rezumate publicate în volumele conferințelor naționale

1.1. **Mitran MI**, Mitran CI, Nicolae I, Tampa M, Sârbu MI, Matei C, Georgescu SR, Popa MI. Serum levels of reactive carbonyl species in lichen planus patients. 7th Congress of the

University of Medicine and Pharmacy Carol Davila, Bucharest, 10-12 October, 2019, published in *Maedica - a Journal of Clinical Medicine*. 2019;14(17):87. ISSN:2501-6903

1.2. **Mitran MI**, Nicolae I, Tampa M, Mitran CI, Sârbu MI, Georgescu SR, Popa MI. Efecte exercitate de virusul hepatitic C asupra nivelului seric al receptorilor solubili pentru produși de glicare avansată la pacienții cu lichen plan. Al 17-lea Congres Național de Dermatologie. Brașov, 03-06 Octombrie 2018, publicat într-un supliment al revistei *Dermatovenerologie*. 2018;63:112 ISSN 1220-3734.

2. Rezumatele publicate în volumele conferințelor internaționale

2.1. **Mitran MI**, Mitran CI, Tampa M, Nicolae I, Sarbu MI, Matei C, Popa MI, Georgescu SR. Association between oxidative stress and hepatitis C virus infection in patients with lichen planus. 28th EADV Congress, Madrid Spain, 9-13 October, 2019. published in book of abstracts. ISBN 978-88-942552-9-4.

3. Rezumate publicate în reviste naționale și internaționale cotate Clarivate Analytics

3.1. **Mitran MI**, Mitran CI, Tampa M, Nicolae I, Sarbu MI, Matei C, Georgescu SR, Popa MI. Oxidative stress as a cofactor in the relationship between lichen planus and hepatitis C virus infection. 49th Annual ESDR meeting, Bordeaux, France, 18-21 September, 2019, published in *J Investig Dermatol*. 2019;139:143. (FI: 6.29).

3.2. Nicolae I, **Mitran MI**, Mitran CI, Tampa M; Sarbu MI, Popa GL, Dragomirescu CC, Popa MI, Georgescu SR. The role of HCV infection on the redox balance in lichen planus patients. 49th Annual ESDR meeting, Bordeaux, France, 18-21 September, 2019, published in *J Investig Dermatol*. 2019;139:374. (FI: 6.29).