

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

“CAROL DAVILA” BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

DOMENIUL MEDICINĂ GENERALĂ

TEZĂ DE DOCTORAT

***PROFILUL CLINIC ȘI INFLAMATOR AL DERMATITEI DE
CONTACT DIN INDUSTRIA DE VOPSELURI***

--REZUMAT--

Conducător științific:

PROF. UNIV. DR. CĂLIN GIURCĂNEANU

Student-doctorand:

DR. RAȘCU ALEXANDRA-MARIA

BUCUREȘTI

2020

Cuprinsul tezei de doctorat

LISTĂ DE ABREVIERI	6
INTRODUCERE	7
PARTEA GENERALĂ	12
1. Noțiuni generale privind structura pielii și funcțiile acesteia	12
1.1. Definiție, structura epidermului, structura joncțiunii dermo-epidermice, structura dermului și hipodermului. Funcțiile pielii	12
1.2. Structura celulară a tegumentului	18
1.2.1. Structura celulară a epidermului, dermului și hipodermului	18
1.3. Procesul inflamator cutanat	27
1.3.1. Mediatori pro-inflamatori: Citokine pro-inflamatorii. Chemokine	27
1.3.2. Mediatori anti-inflamatori	42
2. Dermatita de contact în industria de vopseluri	44
2.1. Date generale privind dermatita de contact profesională	44
2.2. Particularități ale dermatitelor în industria de vopseluri	45
2.2.1. Etiologia dermatitelor de contact în industria de lacuri și vopseluri	45
2.3. Mecanisme patogenice implicate în producerea dermatitei de contact	47
2.3.1. Bariera cutanată. Alterarea funcției de barieră a pielii	48
2.3.2. Procesul inflamator în dermatitele de contact din industria de vopseluri	51
2.4. Diagnostic pozitiv și tratament	54
PARTEA SPECIALĂ- CONTRIBUȚII PERSONALE	61
3. Ipoteză de lucru și obiective generale	61
4. Metodologia generală a cercetării	65
4.1. Descrierea populației de studiu	65
4.2. Protocolul de examinare clinică	68
4.3. Metode de prelucrare statistică a datelor	71
5. Studiul I: Evaluarea expunerii profesionale	73
5.1. Material și metodă	73
5.2. Rezultate	74

5.3. Discuții	75
5.4. Concluzii privind expunerea profesională	76
6. Studiul II: Evaluarea profilului de risc în apariția dermatitei de contact, secundară expunerii la coloranți și vopseluri	78
6.1. Material și metodă	78
6.2. Rezultate	80
6.2.1. Date demografice	80
6.2.2. Factori de risc generali	82
6.2.3. Caracteristici ale activității profesionale	83
6.2.4. Utilizarea echipamentelor de protecție	86
6.3. Discuții	90
6.4. Concluzii privind profilul de risc de dermatită profesională al expușilor profesional la coloranți și vopseluri	99
7. Studiul III. Particularități clinice și evolutive ale dermatitei de contact, secundară expunerii la coloranți și vopseluri	100
7.1. Material și metodă	100
7.2. Rezultate	103
7.3. Discuții	107
7.4. Concluzii	113
8. Studiul IV. Caracteristici ale reacției inflamatorii și imunologice la pacienții cu dermatită de contact, secundară expunerii la coloranți și vopseluri	115
8.1. Screening-ul multiplex pentru o selecție de citokine Th1, Th2 și de citokine implicate în inflamație	115
8.1.1. Material și metodă	116
8.1.2. Rezultate	120
8.1.3. Discuții	123
8.1.4. Concluzii ale screening-ului multiplex	126
8.2. Studiul markerilor plasmatici utilizând kitul multianalit dot-blot	126
8.2.1. Material și metodă	126
8.2.2. Rezultate	134
8.2.3. Discuții	137

8.2.4. Concluzii privind profilul plasmatic al citokinelor în dermatita de contact, secundară expunerii la coloranți și vopseluri	144
9. Concluzii și contribuții personale	145
9.1. Concluzii	145
9.2. Contribuția personală	149
BIBLIOGRAFIE	151
LUCRĂRI PUBLICATE	172
ANEXE	173
Anexa 1 - Formular de consimțământ	173
Anexa 2 - Chestionar pentru evaluarea profilului de risc în apariția dermatitei de contact profesională secundară expunerii la coloranți și vopseluri	177
Anexa 3 - Selecție fotografii subiecți din lotul de studiu	183
Anexa 4 – Articole publicate	185

Cuprinsul rezumatului tezei de doctorat

INTRODUCERE	6
SCOP ȘI OBIECTIVE	7
MATERIAL ȘI METODĂ.....	8
REZULTATE	12
Analiza statistică a datelor	12
Studiul I.....	13
Studiul II.....	14
Studiul III.....	20
Studiu IV	25
DISCUȚII ȘI CONCLUZII.....	31
Bibliografie selectivă:	36
LUCRĂRI PUBLICATE	37

INTRODUCERE

Studiul dermatitelor de contact a căpătat o amploare deosebită în ultima perioadă, în condițiile în care se recunoaște că numărul lor este în creștere.

Dermatita de contact (DC) este o reacție cutanată inflamatorie care apare la contactul direct cu o serie de factori din mediu, agresivi pentru piele. Boala a fost descrisă din antichitate, Pliniu cel Tânăr, în secolul I e.n., citează: “indivizii cu mâncărime severă care lucrează la tăierea copacilor.”

Medicina modernă este tot mai interesată de descoperirea etiologiei dermatitelor de contact, a căror frecvență crescândă a devenit o problemă majoră de sănătate publică.

Există două forme etiologice ale bolii: dermatita iritativă care reprezintă aproximativ 80% din totalul cazurilor și dermatita alergică care reprezintă 20% dintre cazuri. În practică, deosebirea clinică dintre *cele două forme* este dificilă, adeseori bolnavul prezentând atât leziuni de tip iritativ, cât și de tip alergic, de aceea, mulți autori preferă descrierea unitară a celor două afecțiuni sub numele de *dermatită de contact*.

O formă etiologică particulară este DC profesională care apare secundar expunerii la factori de risc existenți la locul de muncă și a cărei incidență anuală este estimată la 0,5-1 la 1000 de lucrători. [1]

În România, informațiile dermatologilor și cele ale specialiștilor de medicina muncii nu reușesc să se integreze. Medicii dermatologi recunosc că *dermatita de contact reprezintă 4-7% din totalul consultațiilor dermatologice iar afecțiunile cutanate, între care cea mai frecventă este dermatita de contact, însumează peste jumătate din totalul bolilor ocupaționale*. [2] *Pe de altă parte*, datele statistice din România arată că numărul dermatitelor de contact profesionale (DCP) declarate în ultimii 10 ani a scăzut comparativ cu anii anteriori. Acest fapt poate fi consecința unui proces laborios și ineficient de semnalare-declarare a bolilor profesionale, precum și a faptului că în abordarea pacientului cunoștințele specialiștilor dermatologi și medicilor de medicina muncii rămân dispartate.

Precizia diagnosticului de dermatită de contact și a DCP în particular este legată de nivelul de abilitate, experiență și cunoștințe ale profesionistului care obține diagnosticul și confirmă relația cu expunerea.

Diagnosticul de profesionalitate ar trebui să reprezinte o prioritate pentru medicul dermatolog într-o dermatită de contact, chiar dacă nu este întotdeauna ușor de stabilit. În

absența demonstrării legăturii cauzale cu ocupația, obiectivată printr-un test diagnostic, multe dermatite profesionale nu sunt deloc recunoscute și indemnizate.

Toate aceste elemente constituie motivul pentru care în prezenta teză am încercat să aprofundez acest subiect din punct de vedere al etiologiei bolii, a mecanismelor fiziopatologice, a diagnosticului de boală și de boală profesională în particular, precum și a măsurilor de prevenire.

Patogenia dermatitei de contact este incomplet elucidată: cei mai mulți autori consideră că leziunile cutanate sunt expresia clinică a dezechilibrului între factorii agresori și capacitatea de apărare a organismului.

Deoarece dermatita de contact este rezultatul interacțiunii dintre expunere și reactivitatea individuală, am ales să desfășor cercetarea la un loc de muncă unde să pot identifica factorii etiologici incriminați în producerea bolii, astfel încât cercetarea mea să aducă informații despre o afecțiune la care cunoaștem etiologia.

Teza de doctorat are ca obiectiv principal explorarea caracteristicilor clinico-biologice ale dermatitei de contact, secundară expunerii la substanțe xenobiotice (iritanți și haptene), utilizate în procesul de fabricare al vopselurilor și lărgirea orizontului de cunoaștere al acestei afecțiuni.

SCOP ȘI OBIECTIVE

Pornind de la premisa că DCP sunt subdiagnosticate, existența informațiilor epidemiologice este restrânsă și având în vedere orizontul limitat de cunoaștere al acestei afecțiuni în industria de vopseluri, obiectivul principal al cercetării personale a fost acela de a explora caracteristicile clinico-biologice ale dermatitei de contact într-un loc de muncă unde factorii etiologici (substanțe xenobiotice utilizate în procesul de fabricare a vopselurilor, capabile să producă leziuni de dermatită de contact) au fost identificați.

Am ales ca mod de abordare a acestui subiect, un studiu bazat pe 4 axe de cercetare, și anume identificarea (1) *factorilor de risc exogeni* implicați în apariția DC, (2) *factorilor endogeni predispozanți*, (3) *caracteristicilor clinice și evolutive ale bolii* și (4) *markerilor de efect biologic*.

Așadar, cercetarea mea cuprinde în fapt patru studii, după cum urmează:

Studiul I- în care mi-am propus să identific expunerea profesională, prin urmare, să clarific care sunt factorii etiologici implicați.

Studiul II- în care am urmărit să identific profilul de risc pentru apariția dermatitei de contact la persoanele care lucrează în industria coloranților și vopselurilor.

Studiul III- în care am analizat particularitățile clinico-evolutive ale dermatitei de contact la această categorie profesională.

Studiul IV- în care am abordat modificările biologice, secundare reacției inflamatorii la persoanele cu dermatită de contact, secundară expunerii la xenobioticele din industria coloranților și vopselurilor.

MATERIAL ȘI METODĂ

Studiul de cercetare s-a desfășurat în perioada 2016-2019 și a inclus subiecți care lucrează într-o fabrică de vopseluri modernă din București, România, cu risc de a dezvolta dermatită de contact.

Subiecții înrolați în studiu se aflau în activitate, fiind considerați apți să desfășoare activitatea în acest loc de muncă.

În primul studiu, am cules informații despre expunerea profesională, analizând factorii de risc exogeni determinanți și agravanți. Ca și metodă de lucru, am efectuat o analiză retrospectivă a informațiilor puse la dispoziție de Serviciul de protecție a muncii privind procesul tehnologic și a dosarelor medicale puse la dispoziție de Serviciul medical pentru toți cei 210 angajați ai fabricii.

Am utilizat, de asemenea, metoda observației directe a activității desfășurate de lucrători și am colectat date suplimentare despre factorii de risc de la locul de muncă: substanțele chimice cu care lucrătorii vin în contact, modalitatea de expunere, timpul de expunere, utilizarea echipamentelor de protecție și orice alt factor care ar putea fi implicat în apariția dermatitei de contact.

În al doilea studiu, am efectuat o anchetă transversală și am avut ca instrument specific de lucru un chestionar, tradus și adaptat după chestionarul nordic de boli

profesionale “The Nordic Occupational Skin Questionnaire”, care a urmărit evidențierea expunerii, profilului de risc biologic și calitatea vieții angajaților. [3]

Chestionarul a fost elaborat pentru acest studiu și a cuprins 52 de întrebări. Participarea respondenților a fost benevolă și după un interviu față în față, subiecții au completat chestionarul, oferindu-li-se suport pentru orice întrebare sau nelămurire pe care au întâmpinat-o, cu scopul de a obține o bună acuratețe a răspunsurilor.

Chestionarul a cules date socio-demografice, *date antropometrice*: înălțime, greutate, *date privind comportamentul general* (adicții), *antecedente heredo-colaterale*, *antecedente personale patologice*, *hobby-uri* care ar putea influența apariția leziunilor, *date privind igiena mâinilor și a mijloacelor de protecție individuală*, date referitoare la *numărul de episoade, durata și răspunsul la tratament*.

Din cei 69 de angajați care au dorit să răspundă întrebărilor din chestionar, am împărțit subiecții în două categorii: *grupul de studiu* alcătuit din angajații cu leziuni de dermatită de contact, leziuni acute și/sau cu leziuni în antecedentele recente (cu condiția să fi apărut în timp ce lucrau la acest loc de muncă) și *grupul de control* care a cuprins același număr de subiecți, cu aceeași expunere, dar fără leziuni de dermatită de contact.

În al treilea studiu, într-o primă etapă, am efectuat examinarea dermatologică după un protocol care a vizat inspecția tegumentelor, mucoaselor și fanerelor. Populația inclusă în acest studiu este reprezentată de pacienții care prezentau leziuni acute la momentul examinării, selectați dintre cei care completaseră deja chestionarul.

Pacienții au fost examinați de două ori: prima dată pentru stabilirea diagnosticului (ocazie cu care au primit tratament cu corticoizi topici) și la două săptămâni de la diagnostic, pentru a evalua eficacitatea și răspunsul la tratament.

Pacienții au oferit și detalii despre activitățile extra-profesionale atunci când au completat întrebările din chestionarul formulat. Am considerat că aceste activități ar putea agrava leziunile preexistente sau ar putea determina apariția unor leziuni noi. Au fost colectate, de asemenea, date despre tratamentul utilizat anterior (atunci când a existat).

Au fost evaluate: aspectul general al tegumentului, mucoaselor și fanerelor, localizarea leziunilor, distribuția anatomică și morfologia leziunilor, configurația lor, culoarea, consistența, textura, dimensiunea și mobilitatea leziunilor, temperatura

tegumentară la nivel lezional și perilezional și sensibilitatea la palpate; existența unor leziuni la distanță, prezența altor semne asociate sau leziuni secundare.

Atunci când au existat neclarități privind diagnosticul, leziunea a fost evaluată dermatoscopic, pentru un diagnostic pozitiv cât mai corect.

Am calculat pentru fiecare subiect în parte două scoruri dermatologice, scoruri validate și folosite în studii (chiar dacă nu există studii pentru dermatitele de contact): scorul EASI și scorul HECSI. [4,5] Scorul EASI măsoară aria de întindere și indexul de severitate ale leziunilor iar scorul HECSI măsoară extensia bolii la nivelul mâinii și severitatea semnelor clinice. Cele două scoruri au fost calculate la subiecții din grupul de studiu care prezentau leziuni.

În **studiul al patrulea**, am urmărit să identific markerii biologici plasmatici la subiecții cu leziuni de dermatită de contact, markeri care să îi diferențieze de persoanele cu aceeași expunere, dar care nu prezintă această afecțiune.

- Studiul 4 s-a desfășurat în 2 etape succesive:

- I. determinarea profilului citokinic inflamator**, centrat pe cele două categorii majore de reacție imunologică (profilul de citokine Th1 și Th2)
- II. identificarea nivelului plasmatic al unor citokine implicate în reacția cutanată** caracteristică DC

Prima etapă a studiului 4 a vizat determinarea profilului de citokine Th1, Th2 și a componentei inflamatorii (comune pentru mecanismul iritativ și alergic), [6,7] iar **cea de a doua** a studiat markerii biologici.

Ținând cont de modelul patogenetic de la care am pornit, descris de Rustemeyer și colab. în literatura de specialitate [8] și pornind de la ideea că leziunile dermatologice sunt recurente și subiecții se află în faza de recontact cu substanțele xenobiotice, în primul studiu de screening, am analizat profilul de citokine:

-*Th1*: interleukina-2 (IL-2), interleukina-12 (IL-12), interleukina-17 (IL-17) și factorul de necroză tumorală (TNF- α).

-*Th2*: interleukina-6 (IL-6) și interleukina-10 (IL-10).

-componenta inflamatorie: TNF- α , proteina chemoattractantă monocitară 1 (Monocyte chemoattractant protein-1- MCP-1) și proteina inductoare 10 a interferonului- γ (interferon gamma inducible protein 10- IP-10) .

Inițial, a fost cercetată diferența statistică a valorilor înregistrate la pacienți (subiecți cu dermatită de contact prin expunere la iritanți și sensibilizanți din industria vopselurilor) și controale (subiecți cu aceeași expunere profesională, dar fără leziuni de dermatită de contact).

Deoarece aceste citokine sunt profund interconectate, s-a studiat și corelația dintre ele în grupul de studiu și în grupul de control, pentru a identifica suprapunerile și diferențele ce ar constitui modele de răspuns biologic la subiecții expuși care dezvoltă sau care nu dezvoltă leziuni cutanate.

Au fost prelevate probe de sânge de la toți subiecții incluși în studiu, în urma obținerii consimțământului informat scris, conform cerințelor de etică pentru cercetarea medicală din Declarația de la Helsinki. Analizele au fost procesate, obținându-se următoarele fracții: plasmă (care a fost utilizată în studiul de citokine), celule mononucleare periferice și ADN din sânge total.

Profilul de citokine enumerat mai sus a fost analizat cu ajutorul kitului multiplex Bio-Plex Pro Human Chemokine Assay. Screening-ul multiplex pentru citokine în sistem Luminex® poate determina cantitativ, simultan, nivelul de expresie a mai multor citokine într-o probă. Sistemul utilizat a fost de tipul XMAP iar pentru detecție a fost utilizată platforma proteomică Bio-Plex™ 200 (Bio-Rad). Multiplexarea array-ului xMAP reprezintă o tehnologie proteomică avansată care permite identificarea și cuantificarea simultană a panelurilor de biomarkeri x-plex dintr-un volum foarte mic de probă biologică într-un timp relativ scurt, cu o înaltă acuratețe.

A doua etapă a studiului 4 a constat în utilizarea unui kit multianalit de tip dot-blot care are capacitatea de a detecta o gamă mai largă de citokine și chemokine (105 molecule de semnalizare) în proba de plasmă a subiecților din grupul de studiu și în proba de plasmă a subiecților din grupul martor.

Au fost selectate 3 probe individuale de la 3 subiecți din grupul de studiu, respectiv, de la cele 3 controale ale acestora. A fost ales acest kit, deoarece moleculele identificate au un rol important în procesele de apărare ale tegumentului și procesele fiziopatologice ale

eczemei de contact, fiind implicate în inflamație, creștere și diferențiere celulară sau în expresia genelor din celulele inflamatorii sau din cele asociate răspunsului imun.

A fost selectat biomarker-ul cu variația cea mai importantă, adică, hormonul de creștere; s-a recurs la determinări cantitative individuale prin tehnica ELISA.

În cele din urmă, s-a decis testarea pool-urilor de plasmă (un pool din lotul de studiu și un pool din lotul de control), această analiză reprezentând baza rezultatelor finale.

REZULTATE

Analiza statistică a datelor

Datele înregistrate în această teză de doctorat au fost de două tipuri: cantitative și calitative.

Baza de date a fost realizată inițial într-un fișier Excel care a fost importat în vederea prelucrării statistice într-un program SPSS (StatPlus:macPro, build 7.1.1.0/Core v7.1.30. 2019, AnalystSoft Inc. U.S.A, 340 S Lemon Ave # 3010 Walnut, CA 91789).

Pentru variabilele cantitative, au fost extrase: mediile, medianele, abaterile standard, valorile minime și maxime. De asemenea, toate variabilele cantitative au fost evaluate din perspectiva normalității distribuției; fiind utilizate *testele Shapiro-Wilk și Kolomogorov-Smirnov*. Ipoteza nulă a acestor teste este aceea că variabilele au o distribuție normală. Dacă valoarea p calculat a fost $< 0,05$, ipoteza nulă (respectiv, distribuția normală) a fost infirmată.

Identificarea tipului de distribuție a segregat seriile de variabile cantitative în 2 categorii: (1) variabile cu distribuție normală iar comparația mediilor acestora s-a realizat prin testul ANOVA și (2) variabile fără distribuție normală, unde s-a folosit testul ANOVA Kruskal-Wallis. Comparația mediilor variabilelor cu distribuție normală s-a realizat prin utilizarea testului ANOVA simplu (One-way ANOVA).

Pentru variabilele de tip calitativ, s-a calculat frecvența de distribuție și s-a realizat o matrice în funcție de factorii de diferențiere avuți în vedere. A fost utilizat *testul chi pătrat* care indică prezența sau nu a unei diferențe de distribuție între populațiile comparate.

Legăturile dintre variabilele cantitative au fost evaluate prin *metoda regresiei liniare multiple* în care au fost introduse una sau mai multe variabile independente pentru o variabilă rezultantă anume, denumită variabilă dependentă. În analiza de regresie, au fost evaluați coeficienții de determinare (R^2) și valoarea obținută prin testul F. Coeficienții de determinare semnifică procentul din variație a răspunsului variabilei rezultante explicată de unul sau mai mulți predictorii (variabilele independente). Cu cât R^2 e mai mare, cu atât relația este mai strânsă.

Testul F reprezintă comparația modelului ales (variabile independente - variabilă rezultantă) cu un predictor cu valoare zero și decide dacă modelul ales este mai bun sau nu față de modelul cu valoare zero. Ipoteza nulă a analizei de regresie liniară este aceea că modelul propus nu prezintă un efect al factorilor asupra variabilei dependente mai bun decât modelul cu valoare zero. Dacă $p < 0,05$, se rejectează ipoteza nulă.

Studiul I

În ceea ce privește **rezultatele primului studiu** (de identificare a expunerii profesionale), acestea au cuprins informații legate de: factorii etiologici implicați în producerea dermatitei de contact la aceste locuri de muncă, respectiv: umiditate, variații de temperatură, factori mecanici, *substanțele* la care sunt expuși angajații în timpul procesului tehnologic de producție a vopselurilor pe bază de apă, frecvența cu care se realizează contactul, *gradul expunerii și părțile anatomice expuse*, utilizarea *echipamentului de protecție și respectarea condițiilor igieno-sanitare*.

Deși procesul tehnologic este automatizat aproape în întregime, lucrătorii au totuși contact mai mult sau mai puțin cu substanțele folosite, reprezentate de: pulbere de carbonat de calciu, pigmenți, biocide, lianți și apă dedurizată și tratată.

În funcție de mecanismul de acțiune, au fost identificate 3 categorii de substanțe: cu acțiune iritantă, alergizantă și substanțe cu acțiune mixtă (Tabel 1).

Tabel 1. Factorii determinanți - DC

SUBSTANȚE -TIPURI	EXEMPLE
ALERGIZANTE	biocide: 5-clor-dimetilimidazolidine-2,4 dionă, 2 metil-2H -izotiazol-3-onă, 3-iodo-2-propinil-butylcarbammat, butil 2,3-epoxipropil ether și la formaldehidă, <i>în concentrații relativ mici(variază de la <1% la 3,9%),</i> aditivi, coloranți.
IRITANTE	Etilendioxi-dimetanol (obținut din etilenglicol și para formaldehidă), clorură de didecil-dimetillamoniu, substanțe cu proprietăți de albire: cloramină, hipoclorit de sodiu
CU ACȚIUNE MIXTĂ	rășinile epoxidice, 1,2-benz-isotiazol; 3 (2H) benz-isotiazolinonă.
MICROTRAUMATISME	

Pe toată durata procesului de producție, muncitorii poartă echipament de protecție (mănuși de protecție, ochelari de protecție și salopetă), echipament care este schimbat periodic, dar care nu este înșă etanș, de aceea nu poate fi exclus contactul cu substanțele din componența vopselurilor. Mănușile sunt alcătuite din latex și ocazional se folosesc și mănuși de cauciuc.

Studiul II

În ceea ce privește **rezultatele studiului 2** (de identificare a profilului de risc în apariția dermatitei de contact, secundară expunerii la coloranți și vopseluri), au fost analizate în cadrul chestionarului date:

- demografice
- despre expunerea profesională (vechime, tip de expunere, lucru în schimburi de noapte)
- despre comportamentul general de risc

- despre antecedentele heredo-colaterale
- despre antecedentele personale patologice, cu mențiunea celor dermatologice și alergice
- despre mijloacele de protecție individuală (utilizarea cremelor de protecție, igiena mâinilor)
- despre activitățile extra-profesionale
- despre numărul de episoade de dermatită, durata și răspunsul la tratament

Din cele 69 de persoane care au completat chestionarul (dintr-un total de 90 de angajați ai departamentului de vopseluri din fabrică), un număr de 29 *subiecți* au afirmat că au prezentat leziuni cutanate pe parcursul desfășurării activității la actualul loc de muncă, chiar dacă nu prezentau leziuni la momentul completării chestionarului. Aceștia *au constituit lotul de studiu (pentru cel de al 2 lea studiu al cercetării)*. Dintre ei, 18 prezentau leziuni acute și 11 au prezentat leziuni anterior examinării, fiind încadrate la perioada respectivă ca leziuni de dermatită de contact.

În întregul lot de respondenți (69 persoane), au fost 55 bărbați și 14 femei.

Analizând *distribuția pe gen* în rândul celor două grupuri, am constatat că frecvența genului masculin în grupul cu dermatită a fost mai mare decât în grupul fără dermatită (89,66% în rândul cazurilor și 72,5% în rândul controalelor), dar *nu s-au înregistrat diferențe semnificative statistice*.

În ceea ce privește *nivelul de pregătire profesională*, au fost 37 de absolvenți de școală generală, 20 de absolvenți de liceu și 12 absolvenți de facultate. Din perspectiva nivelului de pregătire formală, *nu s-au înregistrat diferențe semnificative statistice*.

Vârsta medie a tuturor participanților la studiu a fost de 42,86 ani; în grupul de studiu, *media de vârstă a fost mai mare în comparație cu cea a grupului de control, cu diferență semnificativă statistic* ($U = 336,6$, $p = 0,003$).

În ceea ce privește *factorii de risc generali*, din cei 69 de respondenți, 29 au confirmat existența unor afecțiuni dermatologice în antecedente. În afară de eczemă, au mai fost înregistrate 4 cazuri cu pitiriazis versicolor, 3 cazuri cu acnee vulgară, 2 cazuri cu onicomicoză, 1 caz cu vitiligo și unul cu erupție la nivelul antebrățelor și decolteului (cu etiologie neprecizată).

În grupul de studiu s-au înregistrat un număr semnificativ statistic mai mare de afecțiuni dermatologice în antecedente ($\chi^2 = 10,98$, $p = 0,0009$) și *un număr semnificativ mai mare de antecedente personale patologice de tip alergic* ($\chi^2 = 6,102$, $p = 0,013$) și

numărul *persoanelor cu antecedente heredo-colaterale alergice a fost mai mare în rândul pacienților comparativ cu grupul fără leziuni* (7 vs 3, $\chi^2 = 3,756$, $p = 0,05$).

Deși *proporția diabeticilor* a fost mai mare în grupul de studiu (17,4% versus 5%), prevalența a fost similară ($\chi^2 = 2,763$, $p = 0,09$) în ambele grupuri. Numărul mai mare de diabetici în grupul de studiu are corespondent cu valoarea mai mare a IMC înregistrat (medie în grupul de studiu = 27.69 kg/m², media în grupul de control = 25,75 kg/m², U = 4,842, $p = 0,03$).

Tabel 2. Antecedente personale patologice (APP)

		Total	Grup studiu	Grup martor
APP dermatologice	prezente	17	13	4
	absente	52	16	36
APP alergice	prezente	7	6	1
	absente	62	23	39
Diabet zaharat	prezent	7	5	2
	absent	62	24	38

Vechimea în muncă a fost semnificativ mai mare în grupul de studiu (U = 316,5, $p = 0,001$). Între *vârsta și durata vechimii profesionale, corelația a fost foarte strânsă și înalt semnificativă statistic* (R= 0.96, $p = 0,000$). Vechimea la locul actual de muncă și durata de expunere totală (în actualul loc de muncă sau în locurile de muncă în care au avut expunere la vopseluri și solvenți) nu au fost diferite. *Durata medie totală a vechimii în locul de muncă actual a fost relativ mică (4,52 ani), fără a fi diferență semnificativă între cazuri și controale* (U = 552,5, $p = 0,33$). Nici în momentul în care s-a introdus în analiză vechimea totală în locuri de muncă cu expunere la vopseluri, nu au apărut diferențe semnificative (U = 574, $p = 0,94$)

Analiza expunerii profesionale a arătat că numărul celor care au fost expuși în trecut la vopseluri pe bază de solvenți nu este semnificativ mai mare în grupul de studiu față de grupul control ($\chi^2 = 0,918$ $p = 0,34$). În schimb, *numărul celor expuși la vopseluri pe bază*

de apă (tehnologie utilizată în prezent și la acest loc de muncă), a fost semnificativ statistic mai mare ($\chi^2 = 4,924, p = 0,02$).

Tabel 3. Distribuția expunerii la diferite tipuri de vopseluri

	Expunere vopseluri pe bază de solvenți		Expunere vopseluri pe bază de apă	
	Nr. pers. expuse	Nr. pers. fără expunere	Nr. pers.expuse	Nr. pers. fără expunere
Populația analizată	13	56	59	10
Grup studiu	7	6	28	1
Grup martor	6	34	31	9

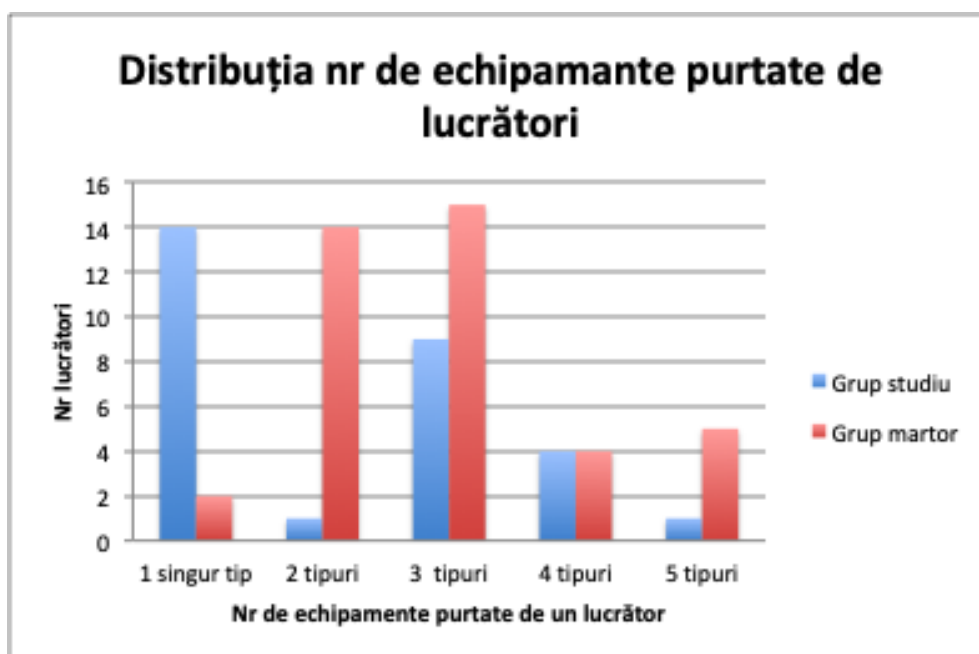
Toți pacienții care au prezentat leziuni au semnalat că leziunile cutanate au apărut în primul an de la angajarea la acest loc de muncă și doar la 4 dintre ei, simptomatologia a debutat după 4 ani de expunere.

Munca în schimburi de noapte a fost mai frecventă la persoanele care prezentau leziuni de tip eczemă. Astfel, s-a constatat că, în lotul de studiu, 66,67% dintre pacienți lucraseră sau lucrau în ture de noapte, în comparație cu numai 33,33% în lotul de control. Această diferență a fost semnificativă statistic ($c^2 = 4,99, p = 0,03$).

Au fost evaluate și datele despre echipamentele de protecție pe care angajații le poartă la locul de muncă. Un număr semnificativ mai mare de lucrători din grupul de studiu utilizează doar un singur tip de echipament de protecție; în grupul martor este mai frecventă utilizarea a 2 sau 3 tipuri diferite de mijloace de protecție individuală. Numărul persoanelor care poartă 5 echipamente de protecție este mai mare în rândul celor fără leziuni de dermatită (Fig. 1).

Diferența între numărul de echipamente individuale de protecție utilizate de cele două grupuri este semnificativă statistic ($\chi^2 = 23,275, p = 0,0001$).

Fig.1 Distribuția comparativă a numărului de echipamente în cele 2 loturi



Un lucru asupra căruia am insistat au fost *mănușile de protecție*. Schimbarea mănușilor se realizează săptămânal, conform protocolului de ordine internă sau ori de câte ori este nevoie. Frecvența cu care sunt schimbate mănușile în cursul unei săptămâni nu a fost semnificativ diferită ($\chi^2 = 3,849$, $p = 0,43$) între cele două grupuri: 10,7% dintre subiecții din grupul de studiu schimbă mănușile atunci când se rup, în timp ce în grupul de control procentul e dublu (20,5%). De asemenea, durata utilizării acestora a fost de aproximativ 7,5 ore/zi.

În ceea ce privește *utilizarea cremelor de protecție*, 33% dintre lucrători utilizează creme de protecție; în grupul de control procentul este dublu față de cel din grupul de studiu (Tabel 4). *Procentul de persoane care nu utilizează creme de protecție este, de altfel, foarte ridicat (73,91%) în rândul pacienților cu dermatită de contact.*

Tabel 4. Utilizarea cremelor de protecție

	Utilizatori de creme de protecție		Non-utilizatori de creme de protecție	
	Val. abs	%	Val. abs	%
Grup studiu	6	26,09%	23	50%
Grup martor	17	73,91%	23	50%
Total	23		46	

Respondenții chestionarului se spală de 5,48 ori pe mâini/zi, fără să existe diferențe semnificative statistic între grupul de studiu și grupul de control ($U = 647$, $p = 0,41$). Considerând o medie de 5 minute/spălare a mâinilor, timpul total al menținerii mâinilor în mediul umed este de aproximativ 27,4 minute/zi.

Angajații folosesc apă și săpun, procentul celor care îl utilizează fiind aproximativ egal în cele două grupuri. În grupul martor, dezinfectanții împreună cu apa și săpunul, au fost utilizați de două ori mai des, însă, diferența nu a atins pragul de semnificație statistică ($\chi^2 = 1,170$, $p = 0,28$).

Altă informație obținută din chestionar este legată de activitățile extra-profesionale (Tabel 5) care ar putea influența leziunile tegumentare. Cei mai mulți respondenți (63,8%) nu au activitate extra-profesională pe care să o practice cu regularitate. În grupul de studiu, 48,28% din respondenți au declarat că au activități extra-profesionale și 17,5% în grupul de control, diferența fiind semnificativă statistic ($\chi^2 = 11,684$, $p = 0,04$) (Tabel 5).

Tabel 5. Tipuri de activități extra-profesionale

Tip de activitate extra-profesională	Grup studiu		Grup martor		Total	
	Val.abs	%	Val. abs	%	Val. abs	%
Niciuna	15	51,7 %	29	72,5%	44	63,8%
Gospodărie	4	13,79 %	8	20%	12	17,4%
Pictură	0	0%	1	2,5%	1	1,4%
Grădinărit	3	10,34%	1	2,5%	4	5,8%
Construcții	6	20,69%	1	2,5%	7	10,1%
Pescuit	1	3,45%	0	0%	1	1,4%
Total	29		40		69	

Se poate spune că:

- înaintarea în vârstă reprezintă un factor de risc: prevalența cea mai mare de dermatită de contact a fost înregistrată la persoanele aflate în decada a 6-a de vârstă.
- prezența unor afecțiuni dermatologice și/sau alergice în APP se asociază cu creșterea riscului DC.
- munca în schimburi alternante, în special munca în schimburi de noapte, crește riscul de apariție și severitate al dermatitei de contact.
- expunerea extra-profesională la noxe chimice, mediu umed sau la radiația solară se asociază cu creșterea riscului.
- comportamentul individual neadecvat, vis-a-vis de mijloacele de protecție individuală utilizate și folosirea inadecvată a cremelor de protecție, cresc șansa de apariție a bolii.

Studiul III

Studiul 3 a urmărit evaluarea particularităților clinice și evolutive ale dermatitei de contact, secundară expunerii la coloranți și vopseluri și a furnizat informații legate de:

- **localizarea și aspectul leziunilor** (Tabel 6),
- **simptomatologia asociată leziunilor** (Tabel 7),
- **extensia și severitatea leziunilor** (prin calcularea scorurilor EASI și HECSI),
- **tratamentul utilizat și răspunsul la tratament.**

Tabel 6. Localizarea leziunilor cutanate și tipul acestora

Aspectul leziunii	MĂINI	MB. INFERIOARE	CAP ȘI GÂT	TORACE	ABDOMEN
	Nr. (%)	Nr. (%)	Nr. (%)	Nr. (%)	Nr. (%)
Eritem	18 (100%)	2 (11,1%)	2 (11,1%)	2 (11,1%)	3 (16,6%)
Edem	18 (100%)	2 (11,1%)	2 (11,1%)	2 (11,1%)	2 (11,1%)
Vezicule	2 (11,1%)	1 (5,5%)	N/A	2 (11,1%)	2 (11,1%)

Uscăciune, scuame și fisuri	18 (100%)	2 (11,1%)	2 (11,1%)	N/A	N/A
Xeroză	18 (100%)	2 (11,1%)	3 (16,6%)	N/A	N/A
Excoriații	2 (11,1%)	2 (11,1%)	3 (16,6%)	N/A	N/A
Lichenificare	3 (16,6%)	N/A	N/A	N/A	N/A

La cei 18 pacienți care au avut leziuni acute la momentul înrolării în studiu, localizarea leziunilor a fost, după cum urmează: *la nivelul mâinilor, am identificat leziuni la toți cei 18 subiecți*, la nivelul toracelui, la 2 pacienți (11,1% din întregul lot), la nivelul abdomenului, la 3 pacienți (11,6%), la nivelul membrelor inferioare, la 4 pacienți (22,2%), la nivelul capului și gâtului, la 4 pacienți (22,2%).

Modificările de la nivelul mâinilor au avut aspect de leziuni eritemato-edematoase cu excepția a 2 dintre subiecți care au avut leziuni veziculoase. Niciunul dintre pacienți nu a prezentat leziuni la nivelul mucoaselor sau fanerelor.

În ceea ce privește *simptomatologia asociată, toți pacienții au avut senzație de arsură la nivel lezional*, doar 2 subiecți (11,1%) au prezentat leziuni pruriginoase.

Tabel 7. Simptomatologia înregistrată în lotul de studiu

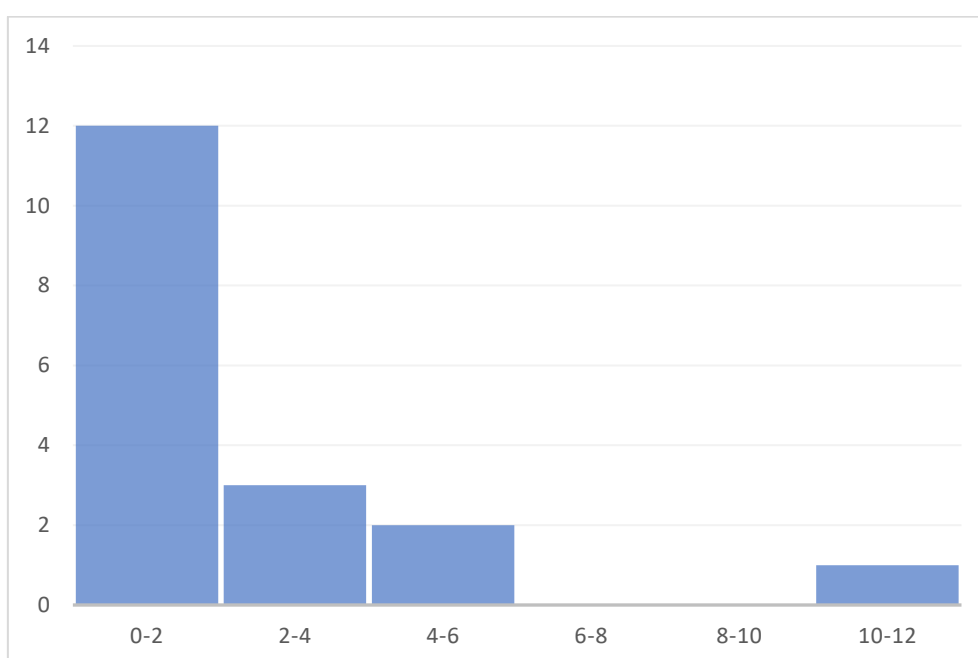
Simptomatologie	Mâini	Membre inferioare	Cap și gât	Torace	Abdomen
	Nr. (%)	Nr. (%)	Nr. (%)	Nr. (%)	Nr. (%)
Senzație de arsură	18 (100%)	2 (10,1%)	N/A	N/A	N/A
Prurit	2 (11,1%)	N/A	1 (5,5%)	N/A	N/A

O particularitate a leziunilor a fost recurența lor: apar în timpul sezonului cald și se ameliorează, până la dispariție, în sezonul rece. Trebuie să facem mențiunea că perioadele de vacanță sunt programate iarna, când producția de vopseluri scade.

După efectuarea protocolului de evaluare dermatologică, în cadrul celui de-al treilea studiu, am calculat scorurile EASI și HECSI. Indicele EASI a avut **valoarea minimă 0.4** și **valoarea maximă 10.4**.

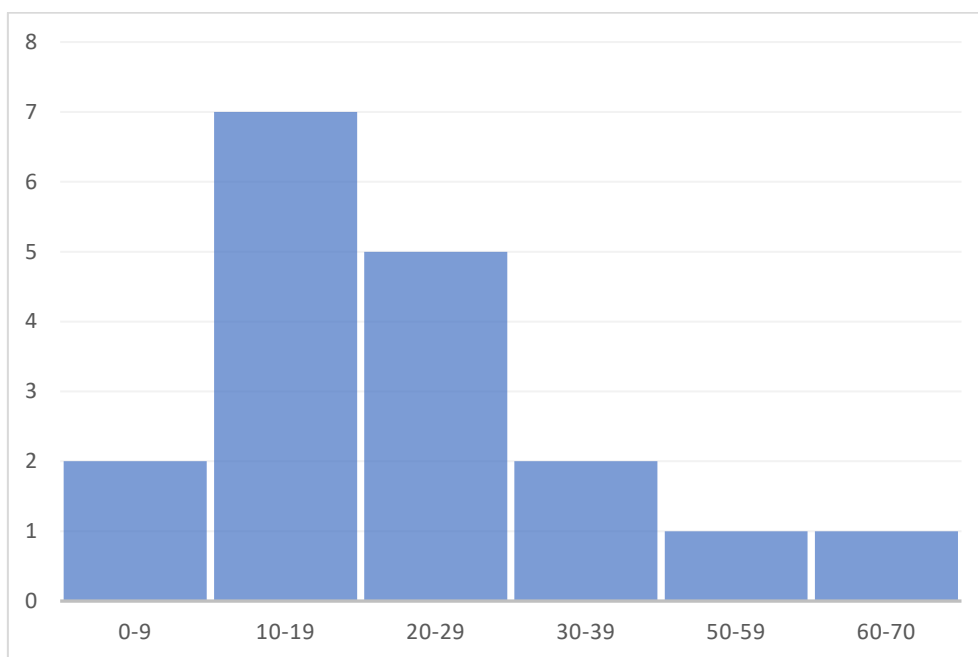
Din punct de vedere statistic, a avut **o medie de 2.28**, o **mediană de 1.7** și o **variație largă** (cu o deviație standard egală cu 2.29). În conformitate cu scorul stratificării severității, din totalul cazurilor, unul singur a fost încadrat ca având leziuni moderate/severe (7.1-21), [9] un procent de 66% s-a încadrat într-un grad scăzut de severitate iar restul (cei aproximativ 30%) a prezentat leziuni încadrate în grad moderat de severitate.

Fig. 2 Distribuția cazurilor în funcție de scorul EASI



În ceea ce privește scorul HECSI, **valoarea minimă obținută a fost 8** iar **valoarea maximă a fost 70**; cei mai mulți pacienți s-au încadrat **într-o medie de 23.27** și o **mediană de 19**, iar intervalul în care s-a situat majoritatea pacienților a fost cuprins între 10-29.

Fig. 3 Distribuția cazurilor în funcție de scorul HECSI



În privința tratamentului, pacienții au declarat că au folosit tratament topic corticoid (sub formă de creme sau unguente) care le-a ameliorat leziunile până la dispariție, dar că acestea au reapărut după o perioadă variabilă de la stoparea tratamentului, în condițiile continuării expunerii.

Deoarece, în momentul examinării, toți subiecții înrolați în lotul de studiu prezentau leziuni, le-am recomandat tratament topic corticoterapic, creme de tip barieră și produse emoliente. Pentru a îmbunătăți calitatea tegumentului și repararea barierei cutanate, am recomandat schimbarea produselor de curățare tegumentară cu agenți de curățare mai blânzi (sindet) și scăderea frecvenței de utilizare a produselor dezinfectante.

Un singur subiect a necesitat corticoterapie sistemică pe o perioadă scurtă, întrucât acesta prezenta leziuni extinse (acute și cronice) la nivelul toracelui anterior, abdomenului și membrelor inferioare. După două săptămâni, când am evaluat răspunsul la tratament, am constatat că leziunile și simptomatologia s-au remis la toți pacienții, fără a fi necesară continuarea sau schimbarea tratamentului.

În cadrul studiului 3, am analizat elementele comune ale celor trei pacienți cu leziunile cele mai grave ca întindere și severitate care au obținut cele mai mari scoruri EASI, respectiv HECSI, luând în considerare răspunsurile furnizate de chestionar.

Toți cei trei pacienți au aceeași profesie, operator preparare vopsea și prin urmare, aceeași expunere.

În ceea ce privește timpul de latență (timpul care s-a scurs de la debutul expunerii la actualul loc de muncă până la momentul apariției leziunilor), acesta a fost cuprins între 3 și 4 ani, cu mult mai redus decât al celorlalți pacienți, dar trebuie să facem mențiunea că expunerea lor profesională se completează cu expunerea casnică, toți trei desfășurând în timpul liber, activități în construcții unde utilizează vopsea pe bază de apă de la diverse firme producătoare și unde există un risc crescut pentru microtraumatisme, leziuni prin lovire, tăiere, înțepare, adică toți factorii care pot crește riscul de apariție și de agravare a leziunilor.

În privința echipamentului de protecție: toți trei folosesc mănuși de cauciuc atunci când spală recipiente, iar în restul timpului folosesc mănuși de latex pe care le schimbă doar atunci când se rup, astfel încât, putem ridica suspiciunea privind lipsa impermeabilității acestora. Se spală pe mâini cu apă și săpun de 5-6 ori pe parcursul unui schimb de lucru și nu folosesc creme de protecție și nici creme emoliente.

În ceea ce privește obiceiul fumatului, 2 subiecți dintre cei 3 sunt mari fumători: iar subiectul nr. 3 este fost fumător, cu un trecut de mare fumător (>20 PA).

Privind antecedentele personale patologice, toți cei trei asociază antecedente dermatologice care ar putea condiționa severitatea leziunilor.

Analizând particularitățile clinice și evolutive ale dermatitei de contact, secundară expunerii la coloranți și vopseluri, prin anamneză detaliată și examen dermatologic complet cu calcularea scorurilor de extensie și severitate ale leziunilor, putem spune că:

- la cea mai mare parte dintre pacienți, leziunile sunt puțin severe, doar trei dintre ei au leziuni extinse și cu severitate moderat-severă.
- leziunile acute au caracter sezonier recurent; dispar în timpul sezonului rece și reapar vara, când există un vârf al producției și prin urmare, al nivelului de expunere; umiditatea și temperatura pot fi factori declanșatori sau adjuvanți ai procesului inflamator.
- după aplicarea unui tratament corticoid topic și emolient, leziunile dispar după o perioadă relativ scurtă, fără a necesita alt tratament, dar reapar dacă expunerea continuă.
- fumatul și antecedentele personale dermatologice ar putea influența gravitatea leziunilor.
- neutilizarea corespunzătoare a echipamentului de protecție și nerespectarea măsurilor de igienă individuală influențează severitatea leziunilor.

Studiile privind componenta genetică în cazul dermatitelor de contact cauzate de expunerea profesională sunt puține, prin urmare este necesară completarea informațiilor.

Din datele noastre, reiese faptul că elementele de mediu au o influență semnificativă în producerea dermatitei de contact prin acțiune directă sau prin posibile modificări epigenetice.

În cazul depistării lucrătorilor cu leziuni cutanate, medicul de medicina muncii trebuie să ia măsuri de îndepărtare a factorilor de risc, măsurile cele mai eficiente fiind schimbarea locului de muncă, urmărirea eficienței recomandărilor medicului dermatolog și reintegrarea profesională a lucrătorului.

De aceea, această lucrare pledează pentru o acțiune în echipă: lucrător, angajator, medic de medicina muncii, medic dermatolog.

Studiu IV

Rezultatele ultimului studiu efectuat în cadrul tezei mele de doctorat, fac referire la:

- *profilul citokinic Th1 și Th2 și componenta inflamatorie*
- *nivelurile plasmatică caracteristice DC ale unor citokine implicate în reacția cutanată determinate și analizate pentru subiecții incluși în studiu*

În această etapă, au fost incluși toți cei 18 pacienți care prezentau leziuni. A fost selectat un lot martor alcătuit din 18 subiecți cu același gen și cu aceeași expunere, dar fără leziuni acute la momentul examinării sau în antecedente.

Inițial, a fost cercetată diferența statistică a valorilor înregistrate la pacienți și controale.

Pentru analiza profilului citokinic Th1, Th2 și a componentei inflamatorii, am utilizat kitul multiplex Bio-Plex Pro Human Chemokine Assay; rezultatele obținute se regăsesc în Tabelul 8.

Tabel 8. Valorile citokinelor analizate

Citokina	Total populație analizată		Grupul de studiu		Grupul control		p
	Medie ± Dev St	Mediană	Medie ± Dev St	Mediană	Medie ± Dev St	Mediană	
IFN-γ	30,34 ± 54,41	14.99	42,42 ± 72,30	27.95	18,25 ± 11,31	14.47	0.48
IL-10	12,29 ± 11,81	8.06	13,27 ± 15,21	6.96	11,23 ± 6,97	8.61	0.53
IL-12	33,03 ± 23,98	25.59	37,06 ± 24,68	32.24	28,71 ± 23,32	26.88	0.35
IL-17	10,92 ± 16,86	6.3	14,44 ± 23,3	7.97	7,39 ± 4,12	6.01	0.78

IL-2	4,41 ± 4,38	3.07	3,84 ± 2,78	2.89	4,98 ± 5,58	3.36	0.77
IL-6	3,97 ± 3,77	2.35	3,91 ± 3,28	2.35	4,04 ± 4,38	2.405	0.87
IP-10	322,76 ± 309,61	264.895	351,99 ± 409,97	244.33	293,53 ± 166,79	275.12	0.64
MCP-1	291,95 ± 94,96	296.53	262,46 ± 88,85	259.36	321,44 ± 94,11	302.19	0.07
TNF-α	16,14 ± 5,04	16	16,83 ± 4,99	17.94	15,44 ± 5,13	15.92	0.43

IFN γ = interferon gamma; IL-2 = interleukina 2; IL-17 = interleukina 17; IL-6 = interleukina 6; IL-12 = interleukina 12; TNF α = factorul de necroză tumorală alfa; MCP-1 = proteina chemoatractantă pentru macrofage 1; IP-10 = proteina 10 indusă de interferonul γ ; Dev St = deviație standard.

Variabilele cu distribuție normală au fost reprezentate de MCP-1 și TNF- α . Compararea acestor variabile s-a efectuat prin aplicarea testului Anova iar pentru toate celelalte, s-a aplicat testul Kruskal Wallis Anova.

După cum reiese din ultima coloană a tabelului 8, *nu s-au înregistrat diferențe semnificative statistic pentru nicio citokină investigată.*

Pentru identificarea modelelor specifice de relaționare între citokinele grupului de studiu și al celui de control, am selectat corelațiile semnificative statistic distincte pentru fiecare grup în parte.

Astfel, în grupul de pacienți am identificat un model distinct de relaționare a IL-10 cu citokinele profilului Th1 (IL-2 și IL-12) și a TNF- α cu IL-12, și de asemenea, un coeficient de corelație înalt apare și între IL-10 și IL-6 (Tabel 9).

Tabel 9. Corelațiile semnificative statistic în grupul de studiu

VAR vs. VAR	Rho	T	p
IL-10 vs. IL-12	0.57	2.43	0.032
IL-10 vs. IL-2	0.63	3.05	0.0087
IL-10 vs. IL-6	0.83	4.9	0.00047
IL-12 vs. TNF- α	0.61	2.79	0.015

În grupul de control, relaționarea distinctă a avut în centru IP-10; această chemokină s-a corelat semnificativ cu mai multe citokine aparținând profilului Th1 (IFN- γ , IL-17, IL-2), dar și cu TNF- α și IL-6 (Tabel 10). Au mai fost evidențiate corelații și între citokine aparținând profilului limfocitar Th1 în clusterul IL-12 (corelație

directă, semnificativă a IL-12 cu IFN- γ și, respectiv, cu IL-17 și cu IL-2). O **corelație pozitivă a fost identificată și între nivelul plasmatic al MCP-1 și cel al TNF- α** .

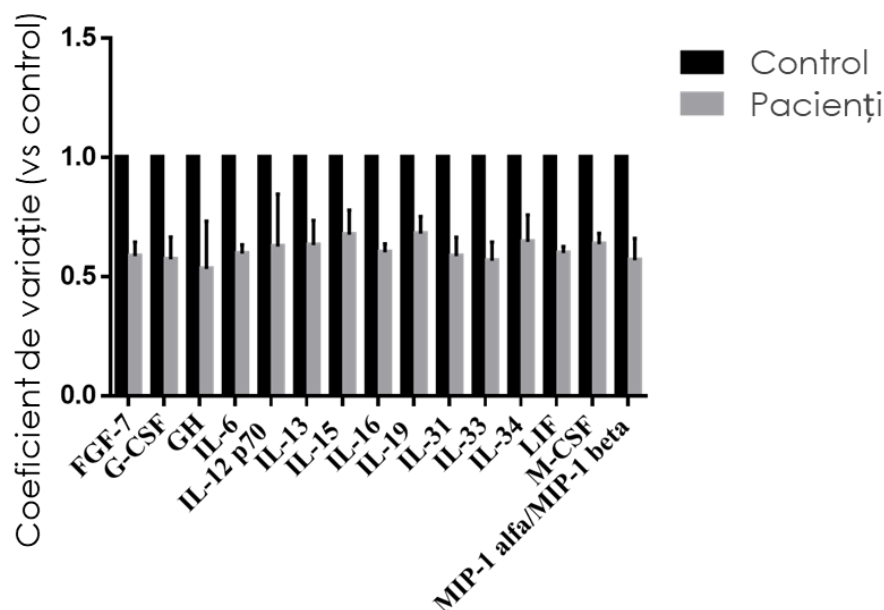
Tabel 10. Corelații semnificative statistic în grupul de control

VAR vs. VAR	Rho	t	P
IL-12 vs. IFN- γ	0.61	2.64	0.02
IL-12 vs. IL-17	0.63	2.8	0.02
IL-12 vs. IL-2	0.71	3.53	0.004
IP 10 vs. IL-17	0.63	3.11	0.007
IP-10 vs IFN- γ	0.71	3.86	0.002
IP-10 vs. IL-2	0.61	2.97	0.01
IP-10 vs. TNF- α	0.63	3.17	0.01
IP-10 vs. IL-6	0.65	2.69	0.02
MCP-1 vs. TNF- α	0.61	2.95	0.01

Luând în considerare etapele anterioare și, pentru că nu au fost identificate diferențe semnificative statistic între nivelurile acestor citokine, s-a trecut la *a doua etapă de testare cu kitul multianalit dot-blot Proteome Profiler™ Array (Human XL Cytokine Array Kit- ARY022B)*.

În figura următoare, sunt reprezentate proteinele care prezintă diferențe de expresie (exprimate ca valoarea a deviației calculată procentual (fold change) de cel puțin 30% (0.7 FC = fold change) în probele individuale plasmatice ale lotului de studiu, comparativ cu lotul martor (Fig. 4).

Fig. 4 Proteinele care prezintă diferențe de expresie de cel puțin 30%



Diferențele cele mai mari sub formă de scădere au fost înregistrate pentru hormonul de creștere (GH), interleukinele: IL-6, IL-16, IL-33 și citokina MIP-1 α /1 β .

Cea mai mare diferență de expresie (0.53FC) a avut-o hormonul de creștere, astfel că s-a recurs la determinări cantitative individuale prin tehnica ELISA ale lotului de studiu și de control.

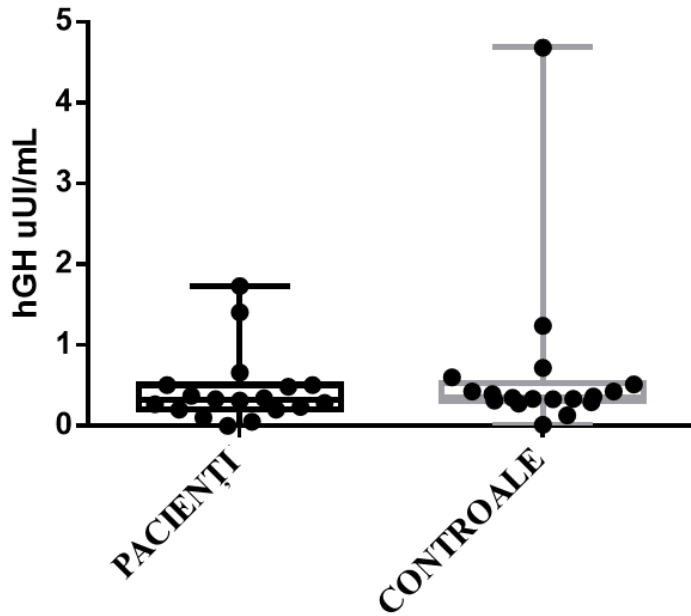
Nu s-a înregistrat însă o distribuție normală a valorilor GH. S-a constatat prezența unei valori extreme (“outlier”) (Fig. 5), (Tabel 11) la un subiect din lotul control și probabil că aceste valori extreme au dus la diferența foarte mare înregistrată inițial între cazuri și controale.

Tabel 11. Valoarea hormonului de creștere

	Media	Dev. St.	Mediana
Grup studiu	174,6 uUI/ml	510,39 uUI/ml	0,324 uUI/ml
Grup control	329,38 uUI/ml	1124,8 uUI/ml	0,357 uUI/ml

Dev. St. = deviația standard

Fig. 5 Valoarea hormonului de creștere

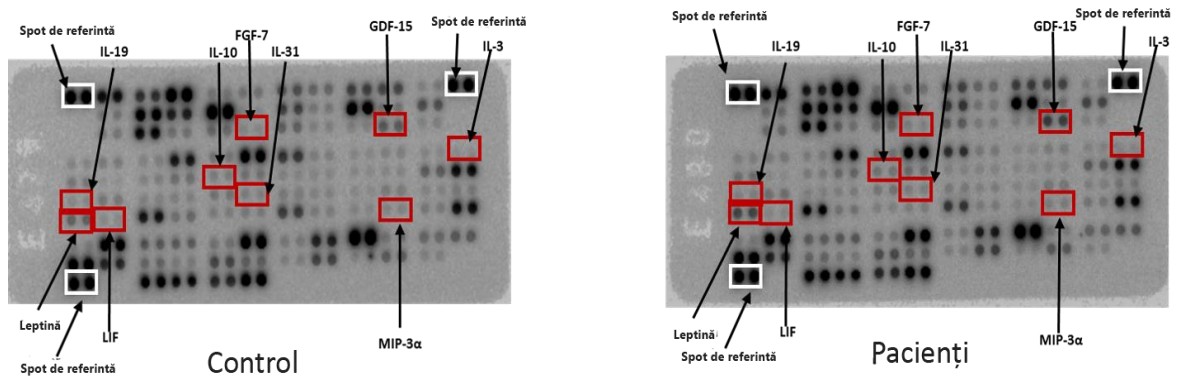


Aplicând testul Mann-Whitney, diferențele înregistrate pentru valoarea plasmatică a GH nu sunt semnificative statistic ($U = 194,5$, $p = 0.3038$).

Rezultatul determinărilor efectuate cu Human XL Cytokine Array Kit – ARY022B, R&D Systems aplicat pe pool-ul de plasmă al tuturor pacienților și tuturor cazurilor control este prezentat sub forma semnalului normalizat conform valorilor densitometrice ale spot-urilor de referință (Fig. 6).

NB: Proteinele care au prezentat diferențe ale semnalului densitometric mai mare de 30% apar încadrate în chenar roșu în Fig. 6.

Fig. 6 Proteinele cu diferențe ale semnalului densitometric mai mare de 30%



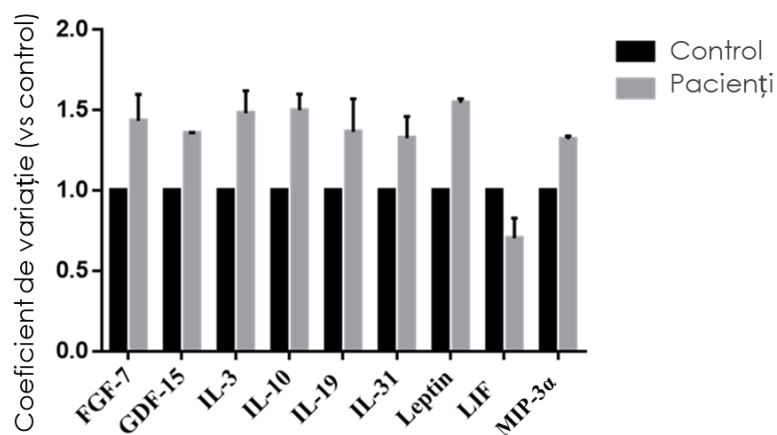
Astfel, se constată că au prezentat creșteri mai mari de 30%: IL-3, IL-10, leptina, FGF-7, GDF-15, IL-19, IL-31 și MIP-3 α . Singura citokină care a prezentat scăderi mai mari de 30% a fost Leukemia inhibitory factor (LIF) (Tabel 12), (Fig. 7).

Specificitatea de răspuns face ca LIF să fie un posibil candidat la rolul de biomarker al testării cutanate la iritanți, așa cum arată și alte studii. [10]

Tabel 12. Proteinele plasmatice care au prezentat cele mai mari variații între lotul de studiu și lotul de control

	Control	Pacienți	FC
FGF-7	0.05	0.06	1.43
GDF-15	0.31	0.42	1.36
IL-3	0.04	0.06	1.48
IL-10	0.09	0.13	1.51
IL-19	0.05	0.07	1.34
IL-31	0.07	0.09	1.32
Leptină	0.26	0.39	1.55
MIP-3 α	0.07	0.09	1.32
LIF	0.06	0.04	0.68

Fig. 7 Nivelurile plasmatice ale proteinelor cu expresie diferită la pacienți vs controale.



Nivelul expresiei proteinelor (valori densitometrice) este reprezentat ca valoarea deviației calculată procentual (fold change) la pacienți (în comparație cu lotul control). Valoarea medie a densității de pixeli la controale a fost normalizată la 1.0 și valoarea

deviației a fost calculată procentual pentru fiecare proteină. Datele sunt prezentate ca valoarea medie a deviației calculată procentual +/- eroare standard a valorii medii.

În concluzie, în studiul meu am identificat un profil de citokine la pacienții cu dermatită de contact din industria vopselurilor, caracterizat prin creșterea nivelului plasmatic al IL-3, IL-10, IL-13, IL-19, a FGF-7 și a GDF-15, și o scădere a LIF.

Datele noastre sugerează că este preferabilă investigarea unui panel de biomarkeri față de cercetarea modificării unui singure proteine implicate în acest proces iar identificarea scăderii nivelului de LIF la pacienții cu dermatită de contact profesională reprezintă un argument pentru cei care au propus utilizarea acestui biomarker în testarea cutanată a toxicității unor produse noi, înainte de introducerea lor în uzul uman.

DISCUȚII ȘI CONCLUZII

Primul studiu, care a avut ca scop analizarea factorilor de risc exogeni profesionali prin intermediul fișelor de identificare riscuri și a observației directe, a adus ca informații faptul că: (1) lucrătorii sunt expuși *la componente din vopseluri* care acționează prin mecanism alergic, iritativ sau mixt, *la microtraumatisme repetate, variații de temperatură și umiditate*, (2) se asigură *măsuri de protecție colectivă și individuală*, (3) există *o bună supraveghere a stării de sănătate a lucrătorilor*

În al doilea studiu, în care mi-am propus să evaluez profilul de risc în apariția dermatitei de contact, secundară expunerii la coloranți și vopseluri, am constatat că: dermatita de contact în industria de vopseluri apare mai ales la bărbați și este mai frecventă în decada a 6-a de vârstă, factorii de risc fiind reprezentați de afecțiunile dermatologice și alergice în antecedentele personale patologice și afecțiunile de tip alergic în antecedentele heredo-colaterale, iar dintre factorii legați de condiția de muncă, doar munca în schimburi și utilizarea mijloacelor de protecție individuale par a fi factori favorizanți.

Prin urmare, se impune o anamneză atentă la angajare pentru identificarea unei sensibilizări anterioare și evitarea utilizării unor produse cosmetice a căror acțiune s-ar putea cumula cu acțiunea substanțelor prezente la locul de muncă. Pentru a reduce riscul dermatologic, prevenția necesită măsuri de educație cu privire la utilizarea echipamentului individual de protecție și al cremelor protectoare.

În studiul al treilea, în care mi-am propus să analizez particularitățile clinice și evolutive ale dermatitei de contact, secundară expunerii la coloranți și vopseluri, am obținut următoarele concluzii: cea mai mare parte dintre pacienți, prezintă leziuni puțin severe și doar trei dintre ei au leziuni extinse și cu severitate moderat-severă. Severitatea leziunilor pare legată de antecedentele dermatologice și/sau alergice, precum și de condiția de fumător. Leziunile au caracter sezonier recurent; acestea dispar în timpul sezonului rece, dar reapar vara când există un vârf al producției. Trebuie luate în calcul umiditatea, variațiile de temperatură și vârful de producție ca factori declanșatori sau adjuvanți.

În ceea ce privește tratamentul, leziunile dispar după o perioadă relativ scurtă de la aplicarea unui tratament topic corticoid și emolient, fără a necesita schimbarea sau prelungirea tratamentului, însă reapar dacă expunerea continuă, ceea ce impune ca în managementul terapeutic să fie cuprinsă și identificarea și îndepărtarea factorului cauzator.

Este indubitabilă afirmația că elementele de mediu au o influență semnificativă în producerea dermatitei de contact, prin acțiune directă sau prin posibile modificări epigenetice.

Evaluând în ansamblu rezultatele **celui de al patrulea studiu**, constatăm că *panelul de biomarkeri identificați are o justificare fiziopatologică și este susținut de studii experimentale și de studii efectuate pe alte tipuri de afecțiuni cutanate sau pe pacienți cu dermatite de contact de alte etiologii*. **Panelul de biomarkeri reflectă dezechilibrul fundamental între intensitatea proceselor de agresiune tisulară exercitate de substanțele iritante și alergizante și scăderea capacității de refacere cutanată și de contracarare a inflamației la pacienții cu dermatită de contact.**

La pacienții din grupul control, expunerea la aceleași substanțe este contracarată eficient de mecanismele de apărare, evitându-se astfel apariția leziunilor cutanate.

Rezultatele noastre se bazează pe Human XL Cytokine Array Kit – ARY022B, R&D Systems array, un kit cu sensibilitate foarte bună în detectarea citokinelor plasmatice. **Faptul că am comparat persoane cu expunere similară scoate în evidență particularitățile de reacție ale pacienților și profilul de citokine obținut, corespunde scopului lucrării, de a caracteriza dermatita de contact generată de acest tip de expunere (aceiași factori etiologici)**. În studiile care fac comparația între subiecți cu dermatită și subiecți fără leziuni cutanate, dar non-expuși, această discriminare nu este posibilă.

Din perspectiva diagnosticului de boală profesională, alegerea unui grup de control expus, dar care nu a făcut boala este perfect justificată, pentru că este importantă identificarea celor la risc și chiar anticiparea apariției leziunilor cutanate printr-o monitorizare a unor compuși plasmatici. *Identificarea unor astfel de biomarkeri ar permite măsuri de profilaxie mai eficiente, reducând îmbolnăvirile.*

Trebuie să menționez totuși că este nevoie de un studiu pe un număr mai mare de pacienți pentru a putea avea un tablou mai complet asupra profilului de proteine plasmatică modificate. De asemenea, determinarea în dinamică a acestor biomarkeri poate furniza informații despre evoluția lor în timp și gradul de corelare cu severitatea, durata și recurența leziunilor.

În concluzie, consider că prin această cercetare doctorală am contribuit la sistematizarea datelor actuale privind dermatitele de contact după o documentare privind factorii etiologici și am identificat profilul de risc al subiectului expus din mai multe perspective care pot fi aplicate în chestionarul inițial de evaluare a riscului.

Am utilizat teste de laborator de mare acuratețe care să permită identificarea unui profil plasmatic amplu de citokine și chemokine, cazurile analizate în această lucrare au avut o investigație exhaustivă dar cu toate acestea, nu putem extrage concluzii generalizate.

Prin urmare, consider că **cercetarea trebuie continuată** multidirecțional și în viitor; în primul rând, prin extinderea cercetării pe un număr mai mare de cazuri, în al doilea rând, prin evaluarea în dinamică a citokinelor și chemokinelor plasmatică, în al treilea rând, prin determinarea cantitativă a unei selecții largi de biomarkeri. Doar astfel am putea compara, confirma sau modifica rezultatele pe care le-am obținut.

Deoarece adesea, factorii genetici sunt implicați în alterarea barierei cutanate, subliniez necesitatea identificării unor genotipuri de risc sau a unor modificări epigenetice induse de expunerea profesională.

Nu în ultimul rând, abordarea viitoare ar trebui să cuprindă și o evaluare comparativă între subiecții expuși și cei neexpuși.

Contribuția personală esențială pentru această cercetare a fost identificarea (printr-un demers sistematic de abordare) **diferențierii între subiecții cu reactivitate individuală crescută și subiecții cu risc scăzut de a dezvolta eczemă de contact**. Această contribuție este importantă în reducerea prevalenței dermatitelor de contact profesionale, cu potențial de aplicabilitate și în cazul dermatitelor de contact non-profesionale induse de biocide. *Studiul de față deschide o perspectivă nouă și asupra dermatitelor de contact, secundare expunerii la substanțe prezente în produsele de îngrijire cosmetică.*

În acest sens, *am studiat această afecțiune din perspectiva factorilor de risc din mediul de muncă, a expunerii extra-profesionale, a factorilor de risc personali și ale modificărilor plasmatice a unor citokine și chemokine.*

Subliniez că, **o astfel de abordare exhaustivă nu este întâlnită în literatura de specialitate și reprezintă, în sine, un element de noutate în cercetarea medicală.**

Am elaborat un chestionar de investigare a factorilor de risc profesionali și extra-profesionali care poate fi propus ca standard de evaluare a riscului dermatologic în practica medicilor dermatologi și a medicilor de medicina muncii care trebuie să decidă asupra etiologiei profesionale sau non-profesionale a unor cazuri de dermatită de contact.

Faptul că această cercetare s-a desfășurat pe un grup de subiecți care lucrează într-o fabrică modernă, reprezintă un argument că **rezultatele obținute au aplicabilitate actuală, în contextul economic prezent.**

Am utilizat în această lucrare **metode de laborator de înaltă performanță care au fost rareori utilizate în studiul dermatitelor de contact**. De aceea, datele publicate în reviste indexate în baze de date internaționale și cotate ISI, au fost foarte bine primite și au prezentat interes.

Am căutat să orientez cercetările pentru **identificarea mai multor markeri plasmatici** utili pentru înțelegerea mecanismelor fiziopatologice și stabilirea diagnosticului de profesionalitate în dermatitele de contact care, deși este uneori evident prin suprapunerea temporală a expunerii cu apariția leziunilor, nu este întotdeauna un diagnostic facil.

Investigațiile alergologice sunt costisitoare, nu sunt acceptate ușor de pacienți și nu sunt total lipsite de riscuri. De aceea, identificarea unor biomarkeri ușor accesibili, cum sunt

cei obținuți din sânge, a căror determinare să fie acceptată de pacienți și care să prezinte riscuri minime pentru aceștia, este o direcție de cercetare foarte necesară.

Coroborând contribuțiile enumerate mai sus, consider că lucrarea aduce o metodologie viabilă și reproductibilă de investigare a dermatitei de contact, precum și informații valoroase pentru cercetarea din domeniul de patologie dermatologică și profesională, răspunzând abordării moderne de tip multidisciplinar a pacientului.

Bibliografie selectivă:

1. T. Diepgen, "Occupational skin-disease data in Europe," *Int Arch Occup Environ Health*, pp. 76(5):331-8, 2003.
2. A. Rascu, M. Otelea, A. Rascu and C. Giurcaneanu, "Irritant Occupational Dermatitis: Highlighting the role of the skin's pH," *DermatoVenerol*, pp. 63(1): 53-59, 2018.
3. P. Susitaival, M. Flyvholm , B. Meding , L. Kanerva, M. Lindberg, A. Svensson and J. Olafsson, "Nordic Occupational Skin Questionnaire (NOSQ-2002): a new tool for surveying occupational skin diseases and exposure," *Contact Dermatitis.*, p. 49(2):70–76, 2003.
4. N. Barbier, C. Paul, T. Luger, R. Allen, Y. De Prost, K. Papp, L. Eichenfield, R. Cherill and J. Hanifin, "Validation of the Eczema Area and Severity Index for atopic dermatitis in a cohort of 1550 patients from the pimecrolimus cream 1% randomized controlled clinical trials programme.," *The British journal of dermatology*, pp. 150(1), 96–102, 2004.
5. E. Held, R. Skoet, J. Johansen and T. Agner, "The hand eczema severity index (HECSI): a scoring system for clinical assessment of hand eczema. A study of inter- and intraobserver reliability.," *Br J Dermatol.*, p. 152(2):302–307, 2005.
6. X. Yu, R. Barnhill and D. Graves , "Expression of monocyte chemoattractant protein-1 in delayed type hypersensitivity reactions in the skin.," *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, p. 71: 226–235, 1994.
7. H. Lee, M. Stieger, N. Yawalkar and M. Kakeda, "Cytokines and chemokines in irritant contact dermatitis," *Mediators Inflamm*, p. 2013:916497, 2013.
8. T. Rustemeyer, I. van Hoogstraten, B. von Blomberg and R. Scheper. [Online]. Available: <http://eknygos.lsmuni.lt/springer/99/11-43.pdf>.
9. Y. Leshem, T. Hajar , J. Hanifin and E. Simpson , "What the Eczema Area and Severity Index score tells us about the severity of atopic dermatitis: an interpretability study.," *The British journal of dermatology*, pp. 172(5), 1353–1357, 2015.
10. A. Parodi , R. Sanguinetia , M. Catalanoa , S. Pencoa , M. Pronzatoa , C. Scanarottia and A. Bassia , "A comparative study of leukaemia inhibitory factor and interleukin-1a intracellular content in a human keratinocyte cell line after exposure to cosmetic fragrances and sodium dodecyl sulphate.," *Toxicol Lett* , p. 101–107, 2010.

Lucrări publicate:

Lucrări științifice publicate în reviste de specialitate indexate ISI (Factor de Impact 1,973)

Rascu AM, Otelea MR, Mambet C, Handra C, Neagu AI, Rascu A, Giurcaneanu C, Diaconu CC. Modified plasma cytokine profile in occupational dermatitis. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets*. 2020 Jun. DOI: 10.2174/1871530320666200607194021
<https://www.eurekaselect.com/182593/article>

Lucrări științifice publicate în reviste de specialitate indexate BDI

Rascu AM, Otelea M, Rascu A, Giurcaneanu C. 2018. Irritant Occupational Dermatitis: Highlighting the role of the skin's pH. *DermatoVenerol*, pp. 63(1): 53-59.

https://revistasrd.ro/includes/files/articles/IRRITANT_OCCUPATIONAL_DERMATITIS_eng_en_337.pdf

Rascu AM, Otelea M, Giurcaneanu C. 2019. The need to improve screening and diagnostic methods in occupational irritant dermatitis. *RJOM*, pp. 58-61.

<https://content.sciendo.com/view/journals/rjom/70/1/article-p58.xml>

Lucrări publicate în cadrul unor manifestări științifice

Rascu AM, Mambet C, Neagu AI, Rascu A, Diaconu C, Otelea MR, Giurcaneanu C. Growth hormone in occupational dermatitis in painting industry- e-POSTER. Al 29-lea Congres EADV Viena, Octombrie 2020- în curs de publicare online

Rascu AM, Pitica (Aldea) I, Matei L, Bleotu C, Mambet C, Neagu AI, Otelea M, Diaconu C, Giurcaneanu C. Proinflammatory cytokines in Occupational Dermatitis. POSTER. Simpozionul Academician Nicolae Cajal al Academiei de Științe Medicale, ediția a XIV, octombrie 2019