



**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA“ DIN BUCUREȘTI**



Str. Dionisie Lupu 37, sector 2, București, 020021, România, www.umfcd.ro, email: rectorat@umfcd.ro

ANUL

2024

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

Imunologia clinică a organului cutanat
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. SIMIONESCU OLGA

Student-doctorand:

SCURTU GHEORGHE LUCIAN MIHAI

ANUL

2024

CUPRINSUL TEZEI

LISTA CU LUCRĂRILE ȘTIINȚIFICE PUBLICATE	7
LISTA CU ABREVIERI ȘI SIMBOLURI	8
INTRODUCERE	10
I. PARTE GENERALĂ.....	13
1. Noțiuni de imunologie cutanată.....	13
1.1. Imunitate cutanată înnăscută.....	13
1.1.1. Factori solubili ai imunității cutanate înnăscute.....	13
1.1.2. Factori celulari ai imunității cutanate înnăscute.....	16
1.2. Imunitate cutanată dobândită.....	19
1.2.1. Celule prezentatoare de antigen.....	19
1.2.2. Limfocitele T și receptorii limfocitelor T.....	21
1.2.3. Limfocitele B.....	21
1.3. Keratinocitele.....	22
1.4. Melanocitele.....	23
1.5. Particularități imunologice ale infecțiilor cu transmitere sexuală.....	23
1.6. Aspecte imunologice în carcinomul bazocelular.....	26
1.7. Aspecte imunologice în carcinomul spinocelular.....	28
1.8. Aspecte imunologice în melanom.....	29
1.9. Imunologia cutanată în bolile autoimune.....	30
1.10. Imunologia cutanată la pacienții cu imunitate alterată.....	33
2. Terapii imunologice locale.....	34
2.1. Terapia topică cu imiquimod.....	34
2.2. Terapia topică cu 5-fluorouracil.....	36
2.3. Terapia topică cu inhibitori de calcineurină.....	38
2.4. Crioterapia focalizată.....	38
II. CONTRIBUȚII PERSONALE.....	40
3. Carcinomul bazocelular- semnalizator clinic al imunodepresiei.....	40
3.1. Ipoteza de lucru și obiectivele studiului	40
3.1.1. Motivația studiului de cercetare	40

3.1.2. Premise.....	41
3.1.3. Obiectivul primar.....	42
3.1.4. Obiectivul secundar.....	42
3.2. Materiale și metode.....	42
3.2.1. Tipul studiului și caracterizarea subiecților.....	42
3.2.2. Criteriile de includere și excludere.....	43
3.2.3. Colectarea datelor.....	43
3.2.4. Analiza statistică.....	44
3.2.5. Limitele cercetării.....	44
3.3. Rezultate	45
3.3.1. Date epidemiologice	45
3.3.2. Date anatomo-clinice	45
3.4. Discuții.....	68
3.5. Concluzii.....	71
4. Evaluarea comparativă a unui tratament conservator ablativ imuno-crioterapic versus tratamentul chirurgical clasic în carcinomul bazocelular.....	73
4.1. Ipoteza de lucru și obiectivele studiului	73
4.1.1. Motivația studiului de cercetare	73
4.1.2. Premise.....	74
4.1.3. Obiectivul primar.....	74
4.1.4. Obiectivul secundar.....	75
4.2. Materiale și metode.....	75
4.2.1. Tipul studiului și caracterizarea subiecților.....	75
4.2.2. Criteriile de includere și excludere.....	76
4.2.3. Colectarea datelor.....	76
4.2.4. Tratamentul conservator ablativ imuno-crioterapic.....	78
4.2.5. Tratamentul chirurgical.....	80
4.2.6. Urmărirea pacienților.....	81
4.2.7. Analiză statistică.....	82
4.2.8. Limitele cercetării.....	82
4.3. Rezultate	83

4.3.1. Distribuția pacienților	83
4.3.2. Caracteristici demografice.....	85
4.3.3. Date anatomo-clinice	87
4.3.4. Rezultate tratament.....	98
4.3.5. Urmărirea pacienților.....	101
4.3.6. Reacții adverse.....	104
4.3.7. Rezultate cosmetice.....	109
4.4. Discuții.....	111
4.5. Concluzii.....	114
5. Concluzii și contribuții personale	117
5.1. Concluzii.....	117
5.2. Contribuții personale	119
BIBLIOGRAFIE.....	122
ANEXE.....	147

I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Capitolul 1: Noțiuni de imunologie cutanată

Pielea reprezintă cea mai importantă barieră fizică, chimică și imunologică, care separă organismul uman de mediul înconjurător. Atât imunitatea înăscută, cât și imunitatea dobândită, se activează în epiderm, derm și hipoderm [1-3].

Imunitatea cutanată înăscută este constituită din factori celulari (celule efectoare) și factori solubili- molecule implicate în cascadele de semnalizare celulară. Factorii solubili ai imunității cutanate înăscute sunt reprezentați de PRRs (*pattern recognition receptors*, receptori de recunoaștere a patternurilor), sistemul complement, inflamazomi, peptide antimicrobiene și citokine. PRRs reprezintă o familie importantă de receptori, localizați atât pe celule imune, cât și pe celule non-imune, cu rol în recunoașterea PAMPs (*pathogen associated molecular patterns*, patternuri moleculare asociate patogenilor: virusuri, bacterii, paraziți) [4, 5]. La nivel cutanat sistemul complementului se activează *via* calea clasică, lectinică sau alternativă (alternă). Toate cele trei căi ale complementului conduc la formarea complexului de

atac membranar care determină moarte celulară prin liză; în plus, unele componente ale sistemului complement (C3a, C5a) induc recrutarea de leucocite, iar C3b induce opsonizarea și fagocitoza complexelor imune [6]. Inflamazomii sunt proteine de mari dimensiuni care se asamblează ca răspuns imediat la PAMPs și DAMPs (*danger associated molecular patterns*, patternuri moleculare asociate pericolelor) și determină activarea caspazei-1, sinteza de IL-18 și IL-1- β și moarte celulară prin piroptoză. Criopirina este inflamazomul asociat NLRP-3, o proteină intens studiată, responsabilă de sindroamele periodice asociate criopirinei, responsive la terapia inovatoare anti-IL-1- β [7, 8]. Peptidele antimicrobiene (alarminele) reprezintă o familie de peptide, majoritatea cu o structură cationică și un important rol antibacterian. Ele sunt responsabile de activarea unui răspuns imunologic prompt antiinfecțios și de inițierea unor mecanisme de epitelizare cutanată [9, 10]. Citokinele sunt proteine cu masă moleculară mică, sintetizate cu precădere de către macrofage și limfocite T (LT), dar și de către alte populații celulare, precum keratinocite, melanocite și celule dendritice [11]

Celulele imunității cutanate înăscute sunt macrofagele, neutrofilele, eozinofilele, bazofilele, mastocitele, precum și o populație aparte de limfocite, celulele NK [4].

Celulele prezentatoare de antigen (CPA) sunt fie rezidente (autohtone) cutanate, fie infiltrază tegumentul din circulația sistemică. Ele sunt distribuite la nivelul epidermului (celule Langerhans), dermului (monocite, macrofagele și celulele dendritice) și hipodermului (monocite, macrofage, LT) [12]. CPA migrează la nivelul ganglionilor limfatici regionali activează LT naive sau determină recircularea unor LT cu memorie, diferite fenotipic și funcțional. LT se vor acumula predilect la locul semnalizării de către CPA, dar și în tegumentul indemn perilezional, în titruri mai mici [13-15]. La nivelul epidermului predomină populațiile de LT CD8+ (LT citotoxice) cu potențial antiinfecțios și antitumoral, iar la nivel dermal se întâlnesc cu precădere LT CD4+. CPA cutanate prezintă antigenul limfocitelor T CD4+, care migrează către foliculii limfatici regionali, unde activează populații de limfocite B (LB). Interacțiunea dintre LT CD4+ și LB se face prin intermediul CD40 [16-18].

Mecanismele de scăpare imunologică în infecțiile cu transmitere sexuală (ITS) sunt complexe, iar terapiile inovatoare în sifilis (linezolidul, salvicina), gonoree (ertapenem, mupirocin, zoliflodacin, MBX-4132), chlamydia (corallopyronina A, 2-pyridonamina) și herpes-ul simplex (nanocarrieri pentru acyclovir, peptide izolate din specii de *Micromonospora*) reprezintă alternative valoroase [19].

Imunogenicitatea tumorală este un element esențial în progresia carcinomului bazocelular (CBC), carcinomului spinocelular (CSC) și melanomului și constă într-o interacțiune constantă între răspunsul local antitumoral și celulele tumorale. Cele trei etape ale acestui proces sunt: faza de eliminare, faza de echilibru și faza de evadare tumorală. [20, 21]. În CSC, inflamația asociată UVB se caracterizează prin hiperproliferarea keratinocitelor, angiogeneză și infiltrare cutanată mieloidă, cu eliberarea de molecule proinflamatoare. Aceste mecanisme inițiale sunt urmate de un infiltrat masiv de macrofage, care, paradoxal, sintetizează VEGF (factor de creștere vascular endotelial) și matrixmetaloproteinaze. Ele stimulează vascularizația tumorală și degradează țesutul peritumoral, crescând potențialul invaziv [22-24].

Capitolul 2: Terapii imunologice locale

În ultimele decenii imunologia organului cutanat a fost intens studiată, iar factorii umorali și celulari ai acesteia au devenit ținte ale terapiilor imunologice. Posibilitatea de administrare a acestor terapii pe cale topică limitează posibilele reacții adverse sistemice.

Imiquimodul, inițial cunoscut drept molecula S-26308 sau R-837 are un puternic rol imunomodulator, antiviral și antitumoral, prin legarea la receptorul Toll like receptor (TLR)-7 de pe suprafața celulelor imune (celule NK, LB, macrofage, celule dendritice), determinând moarte celulară imunogenică, *via* specii reactive de oxigen. În plus, determină sinteză de IL-6, IL-12 și tumor necrosis factor (TNF)- α , cu activarea răspunsului imun dobândit. Este aprobat pentru CBC superficial, leziuni precanceroase precum keratoza actinică și vegetațiile veneriene [25-27].

5-fluorouracilul (5FU) este un derivat fluorurat al uracilului, utilizat în terapia anti neoplazică de peste 50 ani. Acesta acționează ca un antimetabolit prin inhibarea timidin-sintetazei, *via* metabolizii săi intracelulari. Administrarea topică atât în concentrații de 0.5%, cât și de 5%, se asociază cu o absorbție sistemică foarte scăzută [28, 29]. Deși 5FU nu este un agent topic imunomodulator de primă intenție, acesta stimulează proliferarea LT intratumorale și determină producția locală de interferon de tip I (IFN- α , IFN- β) [30].

Crioterapia focalizată utilizează azotul lichid pentru a induce temperaturi de sub 0°C și generează astfel injurie tisulară [31-33]. Mecanismele fizice de acțiune ale crioterapiei sunt

completate de cele imunologice, care sunt extrem de complexe și antrenează un răspuns imunologic atât local, cât și sistemic, la nivelul ganglionilor limfatici care drenează teritoriul respectiv [34].

II. CONTRIBUȚII PERSONALE

Capitolul 3: Ipoteza de lucru și obiective generale

În mediul medical academic românesc, în cadrul pregătirii mele profesionale, am întâlnit numeroși pacienți la care s-a confirmat dermatoscopic și histopatologic diagnosticul de carcinom bazocelular (CBC). Carcinomul bazocelular a reprezentat cea mai frecventă neoplazie pe care am întâlnit-o în practica clinică, pentru care am susținut ipoteza asocierii cu imunodepresia și rolului de "semnalizator" clinic al imunodepresiei la pacientul cu CBC, în colectivul de cercetare al Clinicii Dermatologie I, Spitalul Clinic Colentina.

În plus, există o tendință globală de evitare a exciziilor chirurgicale, iar acest lucru s-a reflectat adesea în cerințele pacienților diagnosticați cu CBC pe secția noastră, care au solicitat metode alternative de tratament. Așadar, plecând de la aceste necesități din practica curentă, în cadrul colectivului de cercetare a fost dezvoltat un tratament combinat, conservator, care combină ablația prin metode fizice, cu crioterapia și aplicarea de topice imunomodulatoare și chimioterapice. Această metodă originală de tratament are la bază descoperirile referitoare la unele molecule care pot stimula imunitatea cutanată înăscută.

Studiul 1 de cercetare a avut ca ipoteză rolul de semnalizator clinic al CBC pentru imunodepresie, în timp ce al doilea studiu a urmărit eficiența unui tratament conservator ablativ imuno-crioterapic (TCAIC) în CBC. Obiectivul primar al primului studiu de cercetare, original, a fost evaluarea comorbidităților imunosupresoare la pacienții cu diagnosticul de CBC, în corelație cu caracteristicile demografice și histopatologice ale CBC. Obiectivele secundare au fost: a) evaluarea distribuției pe vârstă, sex, mediu de proveniență ale pacienților, identificarea distribuției localizărilor CBC având în vedere particularitățile de fototip cutanat ale țării noastre, precum și b) identificarea caracteristicilor macroscopice și microscopice ale CBC pentru populația studiată, reprezentativă pentru regiunea de Sud a României.

Studiul 2 de cercetare a avut drept obiectivul primar testarea unui TCAIC eficient pentru CBC, cu scopul de a obține rezultate terapeutice comparabile sau superioare exciziei

chirurgicale, lipsite de potențialele reacții adverse asociate chirurgiei și adaptat pacienților cu comorbidități multiple (care adesea contraindică chirurgia), vârstnicilor sau a celor reticenți la excizia chirurgicală clasică. Obiectivele secundare ale acestui studiu au fost reprezentate de evaluarea rezultatelor estetice după TCAIC și compararea TCAIC cu excizia chirurgicală clasică din perspectiva răspunsului terapeutic, recurențelor, reacțiilor adverse (RA) locale și sistemice și rezultatului cosmetic (RC).

Capitolul 4: Metodologia generală a cercetării

Studiul 1 a fost retrospectiv, neintervențional și a fost realizat pe 275 pacienți cu vârste cuprinse între 31 și 92 de ani diagnosticați cu CBC, internați în Clinica Dermatologie I, Spitalul Clinic Colentina și o clinică privată academică, în perioada 1 octombrie 2019-1 octombrie 2023. Înregistrările medicale digitale au fost analizate pentru pacienții cu un diagnostic de CBC confirmat histopatologic și au inclus variabile demografice, fototipul cutanat, istoricul medical detaliat al pacientului, caracteristici microscopice și macroscopice ale CBC. Subiecții au fost împărțiți în pacienți imunodeprimați (PI) și pacienți non-imunodeprimați (PNI) în funcție de comorbiditățile asociate. Următoarele comorbidități au fost considerate cauze de imunodepresie: imunodepresiile primare, diabetul zaharat, boala renală cronică, transplantul de organe, medicația imunosupresoare, istoricul de cancer solid sau hematogen 5 ani anterior diagnosticului de CBC, infecțiile cronice, insuficiența cardiacă NYHA IV, asplenia. În acest studiu de cercetare au fost incluși toți pacienții cu vârsta peste 18 ani, cu diagnosticul confirmat histopatologic de carcinom bazocelular. Nu au fost incluși în studiu pacienții cu vârsta sub 18 ani, cei cu sindrom Gorlin, *xeroderma pigmentosum* și pacienții cu date incomplete în fișa de examinare clinică. Acest studiu retrospectiv a fost aprobat de către Spitalul Clinic Colentina.

Studiul 2 a fost prospectiv, clinic, comparativ, de tip intervențional, bicentric, prin crearea unui lot de 179 pacienți diagnosticați cu CBC din cadrul Clinicii Dermatologie I, Spitalul Clinic Colentina și a unei clinici private academice; 129 de pacienți au optat pentru TCAIC și 50 de pacienți au solicitat o intervenție chirurgicală radicală. În stabilirea diagnosticului de CBC s-a ținut cont de examenul clinic local, de examenul dermatoscopic și de examenul histopatologic de certitudine. Înainte de tratament, au fost aplicate criteriile standardizate de dermatoscopie CBC. În acest studiu de cercetare au fost incluși pacienți cu

vârsta peste 18 ani, cu diagnostic clinic, dermatoscopic și histopatologic ale CBC. Nu au fost incluși în studiu pacienții cu: vârsta sub 18 ani, sindrom Gorlin, CBC recurent, CBC ulcerat, CBC recidivat, antecedente de imunosupresie severă în ultimii 2 ani, sarcină (paciente gravide), incapacitate de înțelegere/ respectare a indicațiilor de tratament, incapacitate de oferire a consimțământului informat. S-au evaluat caracteristicile demografice ale pacienților, cele anatomo-clinice ale CBC, precum și reacțiile adverse și rezultatele cosmetice ale tratamentelor.

TCAIC a constat într-un protocol care a cuprins laser CO₂ ablativ, crioterapie, 5FU și imiquimod topic. Noutatea acestui protocol constă în combinarea opțiunilor terapeutice, altfel monoterapice, într-o abordare conservatoare în mai multe etape. TCAIC a început cu o terapie ablativă completă cu laser CO₂ și cu hemostază cu laser-ul, sub anestezie topică cu lidocaină 2,5% și prilocaină 2,5%. Au fost utilizate una până la trei treceri de laser cu putere ajustată la 5-7 W/cm² (diametrul fasciculului 1 mm), cu o margine clinică de securitate de 5 mm în jurul zonei suspecte. Componenta angiogenică a ghidat adâncimea laserului și a indicat eliminarea tumorii. Atunci când ablația laser nu a fost disponibilă s-a utilizat electro-ablația. Ablația cu laser a fost urmată de un pansament ocluziv de tip chemowrap cu 5FU timp de 24 de ore. Chemowrapul constă în aplicarea unei creme de 5FU 5% sub un bandaj compresiv autoaderent. După îndepărtarea chemowrap-ului 5FU, o pulbere antibiotică conținând zinc bacitracină 250 UI și sulfat de neomicină 5000 UI a fost aplicată timp de 5 zile de către pacienți, de două ori pe zi. După o pauză de 7 zile, pacienții s-au prezentat pentru crioterapie focalizată. S-a utilizat un pistol de crioterapie cu azot lichid, o fantă de 1 mm diametru, la -196°C, cu o durată de congelare de 10 secunde, la 2 cm de la suprafața leziunii. Imediat după crioterapie s-a efectuat un chemowrap cu 5% 5FU timp de 24 de ore. Apoi, s-au făcut opt aplicații ocluzive de cremă imiquimod 5%, câte o aplicație la fiecare două zile. Pacienții au fost instruiți să aplice imiquimod cremă noaptea, urmat de un bandaj ocluziv, și să îndepărteze crema cu imiquimod dimineața, prin spălare din abundență cu apă și săpun. Aplicațiile de imiquimod au fost urmate de o fază de vindecare de patru săptămâni. Ulterior a fost efectuată o a doua sesiune de crioterapie, urmată imediat de un chemowrap cu 5% 5FU timp de 24 de ore. După o altă fază de vindecare de patru săptămâni, s-a efectuat evaluarea clinică și dermoscopică digitală și s-a evaluat remisiunea. Remisiunea tumorală după TCAIC a fost definită prin absența criteriilor sugestive dermatoscopice de tumoră reziduală la dermoscopia digitală.

Pentru subgrupul chirurgical, s-a efectuat o excizie eliptică cu bisturiu standard, cu o margine de siguranță de minimum 5 mm sub anestezie locală cu lidocaină 1% și/sau analgo-sedare. S-au efectuat suturi subcutanate și superficiale. Pacienții au fost reevaluați la 10-14 zile (în funcție de localizarea BCC) pentru îndepărtarea suturilor și verificarea plăgii.

Toți pacienții din studiu au fost informați în detaliu asupra procedurilor și studiului, asupra dreptului la confidențialitatea datelor, la felul în care datele sunt stocate și utilizate în scop de cercetare și au semnat un consimțământ informat după înțelegerea pe deplin a tuturor detaliilor, riscurilor și posibilelor reacții adverse. Acest studiu de cercetare nu a prezentat nici un potențial risc psihologic, fizic sau juridic pentru pacienții participanți și este elaborat în concordanță cu principiile, normele și valorile etice din „Declarația Drepturilor Omului” de la Helsinki. Studiul actual de cercetare a fost aprobat de Comisia de Etică a Cercetării Științifice a Universității de Medicină și Farmacie „Carol Davila”.

Capitolul 5: Studiul 1: Carcinomul bazocelular- semnalizator clinic al imunodepresiei

În acest studiu am inclus 133 de bărbați și 142 de femei, reprezentând 48.36%, respectiv 51.64% dintre pacienți. Pacienții incluși în studiu au prezentat o vârstă medie de 65.2 ani, cu o vârstă minimă de 31 ani și una maximă de 92 ani.

Cei mai mulți pacienți (194) au prezentat diagnostice secundare (comorbidități), reprezentând 66.44% din totalul pacienților ($p < 0.001$, 1 sample prop test). Dintre aceștia, pacienții imunosupresați (PI) au reprezentat 81.44% ($p < 0.001$, 1 sample prop test). Distribuția comorbidităților în rândul celor 158 de PI relevă o distribuție neuniformă, iar diabetul zahar a fost cel mai prevalent ($p < 0.001$, Chi-Square-Goodness-Fit). A doua cea mai frecventă comorbiditate a fost istoricul de neoplazii ($\approx 30\%$), urmat de pacienții cu istoric de imunosupresoare antireumatice ($\approx 10\%$). Pacienții cu BRC și cei cu infecții cronice au prezentat prevalențe aproximativ egale ($\approx 8-9\%$). În ceea ce privește istoricul de neoplazii, cancerul de sân a fost cel mai răspândit (2.27%). Pacienții care urmau terapii imunosupresoare prezentau cel mai frecvent artrită (62.5%) și lupus eritematos sistemic (37.5%), iar cei cu infecții cronice au prezentat hepatite virale (62.5%) și tuberculoză pulmonară (37.5%). Niciunul dintre pacienți nu a prezentat infecție HIV, asplenie, insuficiență cardiacă NYHA IV și nici nu a suferit un transplant de organe.

Am realizat o analiză comparativă a vârstei medii, grupelor de vârstă, distribuției pe sex, fototip cutanat și mediu de proveniență pentru PI și PNI. PI au prezentat o vârstă medie mai mare cu aproximativ 5 ani față de PNI ($p=0.0003$, Mann Whitney T). Distribuția comparativă pe grupe de vârstă a PI și PNI arată predominanța grupei de vârstă medii (55-74 ani) la ambele subgrupuri, cu o pondere mai mare la PI ($p<0.0001$, Chi-squared T) și a populației de sub 54 ani la PNI, față de PI ($p<0.0001$, Fisher T). Nu există o diferență semnificativă statistic între distribuția pe fototip cutanat II ($p=0.6303$, Fisher T) și pe tip III ($p=0.6885$, Chi-squared T) sau între mediile de proveniență urban ($p=0.852$, Chi-squared T), respectiv rural ($p=0.8097$, Fisher T) între PI și PNI. Distribuția comorbidităților în funcție de sex nu relevă diferențe semnificative statistic între PI și PNI ($p=0.6802$, Chi-squared T). În subgrupul PI, s-a remarcat o predominanță a femeilor printre cei cu istoric de neoplazii și sub tratament cu imunosupresoare și o predominanță a bărbaților pentru restul comorbidităților, semnificative statistic ($p<0.001$, Fisher T). Diabetul zaharat a fost cea mai frecventă comorbiditate, urmat de istoricul de neoplazii, atât în rândul femeilor, cât și cel al bărbaților. Bărbații cu CBC au prezentat mai multe infecții cronice și niciunul nu se afla pe tratament cu imunosupresoare.

Dintre cei 275 pacienți cu diagnosticul de CBC incluși în acest studiu, 262 pacienți au prezentat un carcinom, 11 pacienți au prezentat 2 carcinoame și 2 pacienți au prezentat 4 carcinoame, însumând 292 de carcinoame incluse în studiu. Dintre toți pacienții, PI au prezentat semnificativ statistic mai mult epiteliomatoză (BCC multiple) ($p=0.02706$, Fisher's Exact Test). Dimensiunea medie a CBC la PI a fost 1.44cm, iar la PNI 1.47cm. Această diferență nu a fost însă semnificativă statistic ($p=0.2577$, Mann Whitney Test). În plus, distribuția dimensiunilor CBC pe grupe de mărime nu a variat între PI și PNI ($p=0.0806$, Chi-Square Test). Distribuția dimensiunilor CBC pe grupe între diversele comorbidități la PI, a relevat o pondere ridicată a pacienților cu diabet zaharat la CBC de sub 10mm și între 10-30mm și o pondere mare a celor cu istoric de cancer la dimensiuni mai mari de 30mm. Totuși, diferențele nu au fost semnificative statistic ($p=0.09581$, Fisher Exact Test). De asemenea, nu s-a relevat o diferență semnificativă statistic între mărimile CBC la pacienții cu istoric de cancer, în comparație cu ceilalți PI ($p=0.1724$, Fisher Test). Analiza distribuției localizărilor CBC la PI și PNI arată ponderi crescute ale CBC pe zonele fotoexpuse pentru ambele grupuri de analiză. Ponderile localizărilor CBC de la nivelul trunchiului și piramidei nazale au fost apropiate între PI și PNI. Se remarcă ponderi mai mari ale CBC la nivelul obrazilor, respectiv la nivelul scalpului, la PI.

Totuși nu există o diferență semnificativă statistic între localizările carcinoamelor la PI și PNI ($p= 0.3328$, Fisher Exact Test with simulated p-value).

S-au evidențiat însă particularități cu înaltă valoare statistică la analiza comparativă a localizărilor CBC la PI. Astfel, între pacienții cu istoric de cancer în ultimii 5 ani, cea mai frecventă localizare a fost la nivelul piramidei nazale (aproximativ 30%), urmat de CBC al trunchiului și obrazilor. Niciun pacient cu istoric neoplazic nu a prezentat CBC la nivelul scalpului sau gâtului. Pacienții aflați sub imunosupresoare au prezentat CBC al trunchiului (aproximativ jumătate) și la nivelul obrazilor. Pacienții cu diabet zaharat au prezentat CBC predilect la nivelul trunchiului (peste 39%), urmat de piramida nazală și obraji. Trunchiul, urmat de obraji, au reprezentat cele mai frecvente localizări la pacienții cu boală renală cronică; niciun pacient cu BRC nu a prezentat însă CBC la nivelul gâtului, urechilor sau scalpului. Pacienții cu infecții cronice au prezentat cel mai frecvent carcinoame pe trunchi (aproximativ jumătate) și pe piramida nazală. Localizarea CBC la pacienții cu istoric neoplazic prezintă particularități în comparație cu ceilalți PI, în sensul unor frecvențe semnificativ statistic mai ridicate la nivelul piramidei nazale și obrazilor și mai scăzute la nivelul trunchiului ($p=0.01047$, Monte Carlo Simulation Test).

Așadar, acest studiu a concluzionat că peste 80% dintre comorbiditățile pacienților cu CBC sunt comorbidități imunosupresoare. În plus, am arătat că dintre comorbiditățile imunosupresoare diabetul zaharat este majoritar, urmat de istoricul de neoplazii, iar cele mai puține cazuri identificate au fost cele de tratamente cu imunosupresoare, boală renală cronică și infecții cronice. Faptul că fototipul cutanat nu a variat între pacienți și că distribuția anatomică a carcinoamelor nu a variat pe zonele fotoexpuse sau cu expunere intermitentă între pacienți imunocompetenți și imunodeprimați elimină posibilitatea de *bias* a studiului, legată de radiația solară ca potențial factor de risc pentru anumite grupe de pacienți.

Consider remarcabil faptul că între pacienții cu istoric de cancer a dominat sexul F și că la aceștia localizarea carcinoamelor pe piramida nazală a fost cea mai frecventă, spre deosebire de ceilalți pacienți imunodeprimați. În plus, acești pacienți au prezentat mai multe carcinoame la nivelul piramidei nazale și obrazilor și mai puține la nivelul trunchiului. Acest studiu nu a concluzionat existența unor subtipuri histopatologice mai agresive sau cu dimensiuni mai mari

la pacienții imunodeprimați. Această observație deschide perspectiva unor cercetări ulterioare referitoare la infiltratele celulare la anumite categorii de pacienți imunodeprimați.

De remarcat, forma ulcerată de carcinom bazocelular a avut o frecvență ridicată la pacienții cu istoric de boală renală cronică, motiv pentru care îmi propun efectuarea unui studiu prospectiv referitor la profilul histopatologic și citologic al CBC la acești pacienți. În concluzie, în acest studiu am arătat că pacienții cu carcinom bazocelular au preponderent comorbidități imunosupresoare și că (spre deosebire de pacienții cu CSC) acești pacienți nu dezvoltă subtipuri mai agresive sau cu debut mai timpuriu ale CBC.

Deoarece CBC diferă între pacienții cu imunodeficiențe secundare și pacienții imunocompetenți în ceea ce privește sexul, subtipul histopatologic și localizările, iar CBC multiple sunt mai frecvente la pacienții imunodeprimați, consider CBC un semnalizator clinic al imunodepresiei. Înțelegerea relațiilor dintre carcinomul bazocelular și neoplazia viscerală/hematogenă poate fi promotorul unor campanii de screening precoce al cancerului la pacienții diagnosticați cu carcinom bazocelular în țara noastră și nu numai.

Capitolul 6: Studiul 2: Evaluarea comparativă a unui tratament conservator ablativ imuno-crioterapic versus tratamentul chirurgical clasic în carcinomul bazocelular

Un număr de 179 de pacienți cu CBC non-ulcerat confirmat histopatologic au fost incluși în studiu: 129 de pacienți au optat pentru TCAIC (72.07%) și 50 de pacienți pentru o intervenție chirurgicală radicală. Dintre pacienții cu TCAIC, 61 (47.29%) pacienți au ales acest tratament deoarece prezentau anxietate chirurgicală (refuzul intervenției chirurgicale), 19 (14.73%) pacienți prezentau comorbidități (diabet zaharat insulino-necesar, aritmii cardiace, anticoagulare, afecțiuni hepatice, antecedente de neoplazie, etc.) și au considerat că riscurile asociate TCAIC sunt mai mici, iar 49 (37.98%) pacienți au considerat vârsta o contraindicație la intervenția chirurgicală. În plus, majoritatea pacienților au luat în considerare TCAIC și pentru potențialele avantaje cosmetice.

Un total de 113 pacienți au finalizat regimul TCAIC complet, 16 au abandonat și 10 au fost excluși din analizele finale din cauza pierderii din urmărire (lost to follow-up). Prin urmare,

au fost analizați 103 pacienți din subgrupul TCAIC. Pacienții au prezentat următoarele motive de abandon ale TCAIC: durata prelungită a tratamentului, emigrare, accesibilitate (pentru cei din teritoriu), respectiv descoperirea unor diagnostice secundare și pierderea ulterioară din evidență. Din subgrupul chirurgical, 4 pacienți au fost pierduți din urmărire și au fost analizați 46 de pacienți. Un număr total de 149 de pacienți au finalizat procedurile de urmărire și au fost incluși în analiza statistică finală. În ceea ce privește vârsta pacienților, pacienții din subgrupul TCAIC au prezentat o medie de vârstă de 67.68 ani (CI: 65.56, 70), cu o vârstă minimă de 31 ani și maximă de 91 ani. Cei din lotul chirurgical au prezentat o vârstă medie de 61.64 ani (CI: 58.03, 65.35), cu o vârstă minimă de 31 ani și maximă de 82 ani. În consecință, vârsta pacienților din lotul conservator a fost semnificativ statistic mai mare (p-value=0.007, Mann-Whitney U Test).

În ceea ce privește comorbiditățile asociate, 40.31% dintre pacienții tratați conservator și 68% dintre cei tratați chirurgical nu prezentau comorbidități, iar 59.69% dintre pacienții tratați conservator și 32%% dintre cei tratați chirurgical prezentau comorbidități. Așadar, pacienții din subgrupul tratat conservator au prezentat statistic semnificativ mai multe comorbidități (p=0.0001, Chi-Squared Test). Subtipurile histopatologice analizate (superficial, nodular, alte forme) au relevat o predominanță a subtipului superficial (S) în subgrupul conservator și o predominanță a altor forme decât nodular și superficial (A) în lotul chirurgical. Această diferență a fost semnificativă statistic (p=0.005, Chi-Squared Test). Analiza dimensiunilor CBC în funcție de fototipul cutanat a relevat o dimensiune medie a CBC mai crescută atât în subgrupul conservator (p=0.011, Mann-Whitney U Test), cât și în cel chirurgical (p=0.013, Mann-Whitney U Test), la pacienții cu fototip cutanat II.

Dintre cei 113 pacienți care au urmat TCAIC, 112 au prezentat remisiune la sfârșitul tratamentului, reprezentând astfel o rată de *clearance* (succes) de 99.11%. O pacientă în vârstă de 82 ani, care prezenta un CBC superficial pe toracele posterior nu a răspuns la TCAIC și a fost îndrumată către serviciul de radioterapie. Dintre cei 112 pacienți cu răspuns clinic favorabil la TCAIC, 102 au efectuat reevaluările conform recomandărilor (91%) și 10 au fost pierduți din evidență (LFU, en.: *lost to-follow-up*). Un singur pacient a prezentat recidivă la *follow-up*, rezultând o rată de recurență de 0.98% a tratamentului conservator. CBC recurent a fost identificat la o pacientă în vârstă de 58 de ani, cu un CBC pigmentar de 50 mm la diagnostic, care a prezentat recidivă clinică și histopatologică la 48 de luni de la finalizarea TCAIC. CBC

recurent a fost îndepărtat prin excizie chirurgicală. Durata medie de *follow-up* a pacienților din subgrupul conservator a fost de 21.11 +/- 14.57 luni. 8.93% dintre pacienți au fost LFU, 22 (19.64%) au fost urmăriți timp de mai puțin de 12 luni, 40 (35.71%) au fost urmăriți între 12 și 24 de luni și 40 (35.71%) au fost urmăriți timp de peste 24 de luni. *Follow-up*-ul telefonic nu a evidențiat recurențe.

Dintre pacienții operați, 46 de pacienți au fost urmăriți și patru au fost LFU. Nu am întâlnit nicio recidivă în subgrupul chirurgical în timpul urmăririi. Durata medie de *follow-up* a pacienților tratați chirurgical a fost de 18 +/- 9.77 luni. 8% dintre pacienți au fost LFU, 6% au fost urmăriți mai puțin de 12 luni, 64% au fost urmăriți între 12 și 24 de luni și 22% au fost urmăriți mai mult de 24 de luni. *Follow-up*-ul telefonic nu a evidențiat recurențe.

Având în vedere că 71.42% dintre pacienții tratați conservator și 86% dintre cei la care s-a intervenit chirurgical au fost urmăriți peste 12 luni, apreciem că procesul de *follow-up* și-a atins scopul în acest studiu, mai ales ca *follow-up*-ul telefonic nu a relevat recurențe noi. Nu am constatat dependențe statistice între rata de clearance și tratament ($p=1$, Proportion Test), sau între rata de recurență și tratament ($p=1$, Proportion Test). Prin urmare, nu am constatat că excizia chirurgicală radicală este superioară tratamentului conservator în ceea ce privește ratele de *clearance* sau de recurență. În plus, subtipurile histopatologice nu au fost corelate cu ratele de vindecare sau de recidivă ($p=1$, Proportion Test).

O majoritate de 70.8% dintre pacienții din subgrupul TCAIC nu au prezentat nicio RA în timpul tratamentului. Doar 14.16% au prezentat RA locale ușoare și 15% moderate (durere și prurit, în special după laser/crioterapie și/sau imiquimod). Chemowraps cu 5-FU au fost bine tolerate. În subgrupul TCAIC nu au fost întâlnite RA locale sau sistemice severe. Doi pacienți au prezentat o impetiginizare secundară care a răspuns prompt la o pudră antibiotică topică ce conținea bacitracină de zinc 250 UI și sulfat de neomicină 5000 UI, timp de 5 zile. Un pacient a prezentat o bulă după crioterapie care a fost puncționată cu un ac steril. Niciunul dintre acești trei pacienți nu a renunțat la TCAIC. În cadrul subgrupului chirurgical, 76% dintre pacienți nu au prezentat RA, 14% au avut RA locale ușoare și 10% au prezentat RA locale moderate (după intervenția chirurgicală sau îndepărtarea punctelor de sutură). Nu am întâlnit nici o dehiscență a plăgii sau impetiginizare a plăgii.

În ambele subgrupuri, toate RA raportate au fost așteptate și într-o relație cauzală certă cu tratamentul. În niciunul dintre subgrupuri nu s-a notat o RA severă. Nu s-a constatat nicio diferență statistică între cele două subgrupuri în ceea ce privește RA.

În cadrul subgrupului TCAIC, 89.32% dintre pacienți au declarat un RC foarte satisfăcător și 10.68% moderat satisfăcător. În plus, 50% dintre pacienții din subgrupul chirurgical au declarat un RC foarte satisfăcător, 34.78% moderat și 15.22% slab satisfăcător. Prin urmare, RC autoevaluat telefonic a relevat un RC superior ($p < 0.001$) în subgrupul tratat conservator. Putem considera că procesul de vindecare a fost superior în grupul TCAIC, deoarece nu s-a întâlnit nicio cicatrice hipertrofică/ keloidă după crioterapie sau laser ablativ. În general, modificările pigmentare și cicatricile vizibile au fost semnificativ mai proeminente după intervenția chirurgicală standard.

Așadar, în cadrul acestui studiu de cercetare am evaluat un tratament conservator ablativ imunologic și crioterapic, eficient pentru CBC, cu scopul de a obține rezultate terapeutice comparabile cu excizia chirurgicală clasică. Am dorit un tratament lipsit de potențialele reacții adverse asociate chirurgiei și adaptat pacienților cu comorbidități multiple care contraindică chirurgia, vârstnicilor sau celor reticenți la excizia chirurgicală clasică. De asemenea, am evaluat rezultatele cosmetice după acest tratament și am comparat tratamentul conservator cu cel chirurgical din perspectiva răspunsului terapeutic, recurențelor, reacțiilor adverse și rezultatelor cosmetice.

Acest tratament conservator s-a bazat pe sinergismul de potențare dintre unele tratamente aprobate pentru CBC în monoterapie, însă cu răspunsuri terapeutice inferioare exciziei chirurgicale clasice. Protocolul pe care l-am ales a fost, așadar, unul cvasi-experimental, iar pacienții diagnosticați cu CBC și-au ales tratamentul dorit după înțelegerea alternativelor și semnarea consimțământului informat. Majoritatea pacienților au ales tratamentul conservator datorită anxietății chirurgicale sau vârstei înaintate, iar rata de abandon a tratamentului a fost una mică. Printre cauzele de abandon nu s-au numărat reacțiile adverse la tratament, ci unele motive personale, legate de accesibilitate sau emigrare.

Pacienții care au optat pentru tratamentul conservator au fost mai în vârstă, cu aproximativ 6 ani și au prezentat mai multe comorbidități în comparație cu cei care au ales excizia chirurgicală. Pacienții tratați conservator au prezentat mai frecvent carcinom

bazocelular superficial, iar localizările de elecție au fost trunchiul și nasul. Forma nodulară și alte forme (mixte, pigmentate, infiltrative) au fost mai frecvente la pacienții operați, majoritar la nivelul trunchiului și obrazilor. În subgrupul chirurgical nu a existat niciun caz de CBC al pavilionului auricular și scalpului, pacienții optând pentru tratamentul conservator pentru aceste localizări extrem de dificile, care adesea necesită plasticie.

Pacienții operați pentru carcinom bazocelular au avut carcinoame cu dimensiuni mai mari, cu aproximativ 5.5mm. Pentru subgrupul tratat conservator au predominat leziuni de mărime intermediară, cu o mărime medie de aproximativ 14mm, iar pentru cel chirurgical mărimea medie a fost de 16mm. Totuși ponderea pacienților cu carcinoame mai mari a fost mai mare în lotul chirurgical.

Pacienții au preferat tratamentul conservator indiferent de mărimea tumorii, care adesea poate reprezenta pentru pacient un factor psihologic care să îl determine să opteze pentru o excizie chirurgicală clasică. Această diferență este cea mai evidentă la dimensiunile de sub 10mm, unde peste 80% dintre pacienți au optat pentru terapia conservatoare. Am înregistrat o remisiune de peste 99% la pacienții tratați conservator, iar toate exciziile chirurgicale au prezentat margini libere de țesut tumoral și carcinoamele au fost excizate în totalitate.

Urmărirea pacienților a reprezentat un element de importanță covârșitoare a acestui studiu, pentru ambele subgrupuri. Dintre pacienții tratați conservator și cu remisiune, 9% au fost pierduți din evidență și 91% s-au prezentat la reevaluări conform indicațiilor. Dintre cei reevaluați am înregistrat o rată de recidivă de sub 1%, la un singur pacient.

Pe lângă ratele crescute de succes terapeutic, și durata crescută de *follow-up* reprezintă un element important al acestui studiu. Am înregistrat o durată de urmărire medie de 21 luni pentru pacienții tratați conservator și de 18 luni pentru cei tratați chirurgical. Astfel, au fost urmăriți mai mult de 1 an peste 70% dintre pacienții tratați conservator și peste 84% dintre cei operați. *Follow-up*-ul telefonic nu a înregistrat recurențe pentru niciunul dintre pacienții celor două subgrupuri.

Nu am evidențiat dependențe între rata de *clearance* și tratamentul ales de pacienți, sau între rata de recurență și tratament. Prin urmare, nu am constatat că excizia chirurgicală radicală

este superioară acestui tratament conservator în ceea ce privește ratele de *clearance* sau de recurență.

Am obținut rezultate excelente și în ceea ce privește reacțiile adverse. Pentru niciunul dintre subgrupuri nu am întâmpinat reacții adverse sistemice, ci doar locale: ușoare și moderate. Peste 70% dintre pacienții tratați conservator nu au prezentat nicio reacție adversă. Procente aproximativ egale au întâmpinat reacții adverse ușoare și moderate de tipul usturime/ prurit/ durere laser/ crioterapie și/ sau imiquimod. Chemowraps cu 5-FU au fost bine tolerate de către pacienți. 76% dintre pacienții operați nu au prezentat nicio reacție adversă locală, 14% au avut unele ușoare și 10% au prezentat RA locale moderate (după intervenția chirurgicală sau îndepărtarea punctelor de sutură). Nu am întâlnit nici o dehiscență a plăgii sau impetiginizare a plăgii. Un alt avantaj al tratamentului conservator este că nu prezintă mai multe reacții adverse locale în comparație cu cel chirurgical. Nu am evidențiat diferențe semnificative statistic între sexe, grupe de mărime sau grupe de vârstă, în ceea ce privește distribuția reacțiilor adverse locale.

Rezultatul cosmetic a fost superior la pacienții tratați conservator, în comparație cu cei tratați chirurgical, din punctul de vedere al autoevaluării pacienților. Aproape 90% dintre pacienți au apreciat un rezultat foarte satisfăcător, iar restul de 10% moderat satisfăcător. Dintre pacienții operați 50% s-au declarat foarte satisfăcuți, 35% moderat și 15% slab satisfăcuți. Deși tehnicile de chirurgie cutanată au fost extrem de laborioase, pacienții au evaluat cicatricea post-excizională ca fiind un dezavantaj al exciziei chirurgicale, deși nu am întâmpinat keloidizări. În general, modificările pigmentare și cicatricile vizibile au fost semnificativ mai pronunțate după excizia chirurgicală.

Acest studiu a relevat un tratament conservator pentru carcinomul bazocelular neulcerat, eficient atât pe formele puțin agresive, cât și pe cele mai agresive, cu rată de abandon mică și reacții adverse locale minime. Acest tratament nu este inferior exciziei chirurgicale în termeni de recurență, dar este superior acesteia din punct de vedere al rezultatului cosmetic apreciat de către pacient.

Capitolul 7: Concluzii și contribuții personale

Organul cutanat reprezintă cea mai importantă barieră fizică, chimică și imunologică a organismului uman și folosește mecanisme de imunitate înăscută și imunitate dobândită pentru acest scop. În cadrul părții generale a tezei de doctorat am relevat principalele mecanisme imunologice implicate în răspunsurile imune cutanate. Factorii celulari și factorii solubili ai imunității cutanate înăscute, precum și imunitatea dobândită contribuie simultan la funcția imunologică a organului cutanat. Răspunsurile imunologice cutanate în infecțiile cu transmitere sexuală, în unele cancere cutanate (CBC, CSC, melanom) sau la pacienții cu imunitate alterată (imunodeprimați) sunt deosebit de complexe și reprezintă ținta unor terapii topice imunomodulatoare sau crioterapiei focalizate. Terapiile topice cu modulatori de receptori Toll-like (imiquimod), inhibitori de calcineurină și 5FU au schimbat abordarea terapeutică în numeroase patologii dermatologice. Aceste molecule funcționează atât individual, cât și sinergic și utilizarea lor deschide noi perspective de tratament, inclusiv în unele forme de cancer cutanat. Acestea sunt astăzi aprobate pentru unele forme de cancer cutanat, dar crește interesul pentru utilizarea lor și în alte forme (*off-label*), mai ales la pacienții la care există un teren debilitant. Consider că asocierea dintre crioterapie și metodele ablativă poate crește șansa unor rezultate favorabile ale terapiilor imunomodulatoare topice, constituind o direcție de cercetare complexă.

În cele două studii de cercetare am evidențiat rolul profund imunologic al organului cutanat din două puncte de vedere diferite:

- în primul studiu am relevat funcția de semnal imunologic, la pacienții cu imunodepresii;
- în cel de-al doilea studiu am arătat răspunsul terapeutic la o terapie imunomodulatoare combinată, inovatoare.

Ambele studii au fost efectuate pe pacienți diagnosticați cu cea mai frecventă neoplazie cutanată (carcinomul bazocelular), iar rezultatele au deschis numeroase perspective de cercetare ulterioară.

Primul studiu a evaluat retrospectiv (*cross-sectional*) comorbiditățile în rândul a 275 pacienți diagnosticați cu carcinom bazocelular (292 carcinoame) și a stabilit corelații între particularitățile demografice ale pacienților (vârstă, sex, mediu de proveniență), caracteristicile

histopatologice ale carcinoamelor (dimensiune, subtip histopatologic, agresivitate) și istoricul de comorbidități al pacienților. Am arătat că majoritatea pacienților cu CBC prezintă comorbidități imunosupresoare și că aceștia prezintă mai frecvent carcinoame multiple. Așadar, opinez că pacienții care prezintă carcinomatoză CBC ar trebui evaluați cu înaltă precauție pentru cauze de imunodepresie. Consider că un studiu prospectiv cu pacienți cu CBC multiple ar aduce un plus de informații în această direcție. În plus, am arătat că localizarea carcinoamelor pe piramida nazală a fost cea mai frecventă la pacientele cu istoric neoplazic, spre deosebire de ceilalți pacienți imunodeprimați și că forma ulcerată de CBC a avut o frecvență ridicată la pacienții cu istoric de boală renală cronică. Având în vedere aceste concluzii îmi propun efectuarea a două studii prospective pe loturi de pacienți cu istoric neoplazic, respectiv cu istoric de boală renală cronică, în care să studiez particularitățile anatomoclinice ale CBC. Așadar, acest studiu, deși nu a fost prospectiv (reprezentând un dezavantaj), poate constitui premisele pentru implementarea unor programe de screening în România la pacienții diagnosticați cu carcinom bazocelular. Date fiind aceste observații, consider că acest studiu și-a atins obiectivele primare și secundare.

În cadrul celui de-al doilea studiu de cercetare am inclus pacienți diagnosticați cu carcinom bazocelular non-ulcerat care au ales între excizia chirurgicală clasică și un tratament conservator ablativ imunologic și crioterapeutic, care s-a bazat pe sinergismul de potențare dintre unele tratamente standardizate pentru CBC în monoterapie, însă cu rezultate terapeutice inferioare. Pentru acest tratament conservator am înregistrat o remisiune de peste 99% și o rată de recidivă de sub 1% precum și rezultate cosmetice superioare exciziei clasice. Obiectivele acestui studiu au fost atinse și din perspectiva minimelor reacții adverse întâmpinate de către pacienți, comparabile cu cele ale pacienților operați. Dezavantajele acestei metode au constat în vizitele repetate la medic precum și în aplicarea la domiciliu de către pacient a unor topice, însă niciun pacient nu a abandonat tratamentul din aceste motive. Considerentele financiare asociate acestei terapii conservatoare (cu precădere costurile terapiei cu imiquimod) reprezintă o provocare a pacienților din România diagnosticați cu carcinom bazocelular non-ulcerat; consider că serviciile naționale de sănătate publică pot sprijini în viitor aceste metode, având în vedere numeroasele avantaje asociate.

Partea generală a tezei de doctorat a constituit un *Review* exhaustiv al literaturii de specialitate, în cadrul căreia am inclus, ca elemente de originalitate:

- a. un articol de tip *Review*, referitor la factorii solubili implicați în imunitatea cutanată înăscută;
- b. un articol de tip *Review*, referitor la mecanismele de scăpare imunologică din unele infecții cu transmitere sexuală;
- c. particularități ale unei patologii cutanate cu deficit de complement, într-un articol de tip *Case report*;
- d. Figurile 1.1-1.8, 2.2 și 2.5 ale prezentei Teze reprezintă creații proprii, originale, realizate utilizând soft-ul BioRender.

Contribuțiile personale ale tezei de doctorat constă în două studii originale:

1. Primul studiu a caracterizat statusul de imunodepresie la pacienți cu CBC autentificat histopatologic. În cadrul acestui studiu am colectat toate datele pacienților, respectând criteriile de includere și pe cele de excludere, am creat baza de date, am efectuat analiza statistică, figurile, tabelele și graficele și am demonstrat că:

- a. Bărbații cu carcinom bazocelular prezintă o vârstă medie mai crescută ($p=0.0432$, Unpaired T test);
- b. 81.44% dintre comorbiditățile pacienților cu carcinom bazocelular sunt cauzatoare de imunodepresie ($p<0,001$, 1 sample prop test);
- c. Distribuția comorbidităților în rândul pacienților imunodeprimați este neuniformă, iar diabetul zahar a fost cel mai prevalent, urmat de istoricul de neoplazii, tratamentul cu imunosupresoare antireumatice, boala renală cronică și infecțiile cronice ($p<0.001$, Chi-Square-Goodness-Fit);
- d. Pacienții imunodeprimați au prezentat o vârstă medie mai mare cu aproximativ 5 ani ($p=0.0003$, Mann Whitney T);

- e. Femeile cu carcinom bazocelular au prezentat mai frecvent istoric de neoplazii și de tratamente imunosupresoare, iar bărbații istoric de boala renală cronică, diabet zaharat și infecții cronice ($p < 0.001$, Fisher T);
- f. pacienții imunodeprimați nu prezintă CBC mai agresiv ($p = 0.3589$, Chi-Squared Test) sau cu dimensiuni mai mari ($p = 0.2577$, Mann Whitney Test);
- g. pacienții cu istoric de cancer prezintă mai frecvent CBC la nivelul piramidei nazale și obrajilor ($p = 0.01047$, Monte Carlo Simulation Test);
- h. pacienții cu istoric de boală renală cronică au prezentat mai frecvent subtipul ulcerat de CBC ($p = 0.0064$, Fisher Exact Test with simulated p-value).

2. Cel de-al doilea studiu a evaluat un tratament conservator ablativ imuno-crioterapic pentru CBC non-ulcerat în comparație cu excizia chirurgicală clasică. Am participat activ la procedurile efectuate (atât cele conservatoare, cât și la excizii chirurgicale), am participat la monitorizarea pacienților, a reacțiilor adverse și a procesului de cicatrizare, la procesul de *follow-up*, am realizat o bază de date, prelucrările ulterioare (analiză statistică, tabele, grafice, figuri) și am demonstrat că:

- a. majoritatea pacienților (72%) preferă o terapie conservatoare;
- b. vârsta pacienților din lotul conservator a fost semnificativ statistic mai mare ($p\text{-value} = 0.007$, Mann-Whitney U Test);
- c. pacienții din subgrupul tratat conservator au prezentat statistic semnificativ mai multe comorbidități ($p = 0.0001$, Chi-Squared Test);
- d. pacienții din lotul chirurgical au prezentat carcinoame cu aproximativ 5.5mm mai mari ($p = 0.0001$, Mann-Whitney U Test);
- e. rata de succes a tratamentului conservator a fost 99.11%, iar cea a tratamentului chirurgical 100%;
- f. 91% dintre pacienții tratați conservator s-au prezentat la *follow-up*, durata medie a *follow-up*-ului a fost de 21 luni și rata de recurență a fost de 0.98%;

- g. 92% dintre pacienții tratați chirurgical s-au prezentat la *follow-up*, durata medie a *follow-up-ului* a fost de 18 luni și nu au prezentat nicio recurență;
- h. Nu am constatat dependențe statistice între rata de *clearance* și tratament ($p=1$, 2-sample Test for equality of proportions with continuity correction), între rata de recurență și tratament ($p=1$, 2-sample Test for equality of proportions with continuity correction) sau între reacțiile adverse locale și tratament ($p=0.676$, Pearson's Chi-squared test);
- i. rezultatele cosmetice au fost superioare la pacienții tratați conservator ($p<0,001$, Fisher's Exact Test).

Bibliografie selectivă

1. Bonefeld, C.M.; Geisler, C. The role of innate lymphoid cells in healthy and inflamed skin. *Immunol. Lett.* 2016, *179*, 25–28. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2016.01.005>.
2. Matsui, T. & Amagai, M. Dissecting the formation, structure and barrier function of the stratum corneum. *Int. Immunol.* 27, 269–280 (2015).
3. Rajsheker, S. et al. Crosstalk between perivascular adipose tissue and blood vessels. *Curr. Opin. Pharmacol.* 10, 191–196 (2010).
4. Meyer-Hoffert, U. Innate Immunity in the Skin. *J. Innate Immun.* 2012, *4*, 223–224. <https://doi.org/10.1159/000336867>.
5. Ermertcan, A.; Ozturk, F.; Gunduz, K. Toll-like receptors and skin. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2011, *25*, 997–1006. <https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2011.04049.x>.
6. Palianus, J.; Meri, S. Complement System in Dermatological Diseases—Fire Under the Skin. *Front. Med.* 2015, *2*, 3. <https://doi.org/10.3389/fmed.2015.00003>.
7. Latz, E.; Xiao, T.S.; Stutz, A. Activation and regulation of the inflammasomes. *Nat. Rev. Immunol.* 2013, *13*, 397–411. <https://doi.org/10.1038/nri3452>.
8. He, Y.; Zeng, M.Y.; Yang, D.; Motro, B.; Núñez, G. NEK7 is an essential mediator of NLRP3 activation downstream of potassium efflux. *Nature* 2016, *530*, 354–357. <https://doi.org/10.1038/nature16959>.
9. Yamasaki, K.; Gallo, R.L.; Kenshi, Y.; Richard, L.G. Antimicrobial peptides in human skin disease. *Eur. J. Dermatol. EJD* 2007, *18*, 11–21. <https://doi.org/10.1684/ejd.2008.0304>.

10. Herman, A.; Herman, A.P. Antimicrobial peptides activity in the skin. *Ski. Res. Technol.* 2019, 25, 111–117. <https://doi.org/10.1111/srt.12626>.
11. Scurtu LG, Simionescu O. Soluble Factors and Receptors Involved in Skin Innate Immunity- What Do We Know So Far? *Biomedicines.* 2021 Nov 29;9(12):1795. doi: 10.3390/biomedicines9121795.
12. Kashem SW, Haniffa M, Kaplan DH. Antigen-Presenting Cells in the Skin. *Annu Rev Immunol.* 2017 Apr 26;35:469-499. doi: 10.1146/annurev-immunol-051116-052215. Epub 2017 Feb 6.
13. Kashem, S. W., Haniffa, M. & Kaplan, D. H. Antigen-presenting cells in the skin. *Annu. Rev. Immunol.* 35, 469–499 (2017).
14. Ho AW, Kupper TS. T cells and the skin: from protective immunity to inflammatory skin disorders. *Nat Rev Immunol.* 2019 Aug;19(8):490-502. doi: 10.1038/s41577-019-0162-3.
15. Jiang, X. et al. Skin infection generates non-migratory memory CD8+ T(RM) cells providing global skin immunity. *Nature* 483, 227–231 (2012).
16. Sabat R, Wolk K, Loyal L, Döcke WD, Ghoreschi K. T cell pathology in skin inflammation. *Semin Immunopathol.* 2019 May;41(3):359-377. doi: 10.1007/s00281-019-00742-7.
17. Halle S, Halle O, Forster R. Mechanisms and dynamics of T cell-mediated cytotoxicity in vivo. *Trends Immunol.* 2017;38:432–443.
18. Becattini S, Latorre D, Mele F, Foglierini M, De Gregorio C, Cassotta A, Fernandez B, Kelderman S, Schumacher TN, Corti D, Lanzavecchia A, Sallusto F. T cell immunity. Functional heterogeneity of human memory CD4(+) T cell clones primed by pathogens or vaccines. *Science.* 2015;347:400–406.
19. Scurtu LG, Jinga V, Simionescu O. Fascinating Molecular and Immune Escape Mechanisms in the Treatment of STIs (Syphilis, Gonorrhea, Chlamydia, and Herpes Simplex). *Int J Mol Sci.* 2022 Mar 24;23(7):3550. doi: 10.3390/ijms23073550.
20. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science.* 2011;331(6024):1565–70.
21. Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(10):715– 27.

22. Pettersen J.S., Fuentes-Duculan J., Suarez-Farinas M., Pierson K.C., Pitts-Kiefer A., Fan L., Belkin D.A., Wang C.Q., Bhuvanendran S., Johnson-Huang L.M., et al. Tumor-associated macrophages in the cutaneous SCC microenvironment are heterogeneously activated. *J. Investig. Dermatol.* 2011;131:1322–1330. doi: 10.1038/jid.2011.9.
23. Moore R.J., Owens D.M., Stamp G., Arnott C., Burke F., East N., Holdsworth H., Turner L., Rollins B., Pasparakis M., et al. Mice deficient in tumor necrosis factor-alpha are resistant to skin carcinogenesis. *Nat. Med.* 1999;5:828–831. doi: 10.1038/10552.
24. Bald T., Quast T., Landsberg J., Rogava M., Glodde N., Lopez-Ramos D., Kohlmeyer J., Riesenbergs S., van den Boorn-Konijnenberg D., Homig-Holzel C., et al. Ultraviolet-radiation-induced inflammation promotes angiogenesis and metastasis in melanoma. *Nature.* 2014;507:109–113. doi: 10.1038/nature13111.
25. Papakostas, D.; Stockfleth, E. Topical treatment of basal cell carcinoma with the immune response modifier imiquimod. *Future Oncol.* 2015, 11, 2985–2990.
26. Wagstaff AJ, Perry CM. Topical imiquimod: a review of its use in the management of anogenital warts, actinic keratoses, basal cell carcinoma and other skin lesions. *Drugs.* 2007;67(15):2187-210. doi: 10.2165/00003495-200767150-00006.
27. Garcia-Mouronte E, Berna-Rico E, de Nicolas-Ruanes B, Azcarraga-Llobet C, Alonso-Martinez de Salinas L, Bea-Ardebol S. Imiquimod as Local Immunotherapy in the Management of Premalignant Cutaneous Conditions and Skin Cancer. *Int J Mol Sci.* 2023 Jun 29;24(13):10835. doi: 10.3390/ijms241310835.
28. Wigmore PM, Mustafa S, El-Beltagy M, Lyons L, Umka J, Bennett G. Effects of 5-FU. *Adv Exp Med Biol.* 2010;678:157-164. doi:10.1007/978-1-4419-6306-2_20.
29. Levy S, Furst K, Chern W. A novel 0.5% fluorouracil cream is minimally absorbed into the systemic circulation yet is as effective as 5% fluorouracil cream. *Cutis.* 2002;70(2 Suppl):14-21.
30. Tian J, Zhang D, Kurbatov V, et al. 5-Fluorouracil efficacy requires anti-tumor immunity triggered by cancer-cell-intrinsic STING. *EMBO J.* 2021;40(7):e106065. doi:10.15252/embj.2020106065.
31. Hoffmann NE, Bischof JC. The cryobiology of cryosurgical injury. *Urology.* 2002 Aug;60(2 Suppl 1):40-9.

32. Bischof JC. Quantitative measurement and prediction of biophysical response during freezing in tissues. *Annu Rev Biomed Eng.* 2000;2:257-88.
33. Hoffmann NE, Bischof JC. Cryosurgery of normal and tumor tissue in the dorsal skin flap chamber: Part I--thermal response. *J Biomech Eng.* 2001 Aug;123(4):301-9.
34. S. Gazzaniga, A. Bravo, S.R. Goldszmid, et al., Inflammatory changes after cryosurgery-induced necrosis in human melanoma xenografted in nude mice, *Journal of Investigative Dermatology.* 116 (5) (2001) 664–671.

Lista cu lucrări publicate

1. **Lucian G. Scurtu**, Olga Simionescu. Soluble Factors and Receptors Involved in Skin Innate Immunity-What Do We Know So Far? *Biomedicines.* 2021, 29;9(12): 1795. Indexare ISI (Web of Science) și PubMed. FI=4.757. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34944611/>
2. **Lucian G. Scurtu**, Viorel Jinga, Olga Simionescu. Fascinating Molecular and Immune Escape Mechanisms in the Treatment of STIs (Syphilis, Gonorrhea, Chlamydia, and Herpes Simplex). *International Journal of Molecular Sciences.* 2022, 23(7): 3550. Indexare ISI (Web of Science) și PubMed. FI=5.6. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35408911/>
3. **Lucian G. Scurtu**, Marian Petrica, Francesca Scurtu, Anca Angela Simionescu, Marco I. Popescu and Olga Simionescu. Basal cell carcinoma—a clinical indicator of immunosuppression. *Frontiers in Medicine.* 2024, 11: 1381492. Indexare ISI (Web of Science) și PubMed. FI=3.9. <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1381492>
4. **Lucian G. Scurtu**, Marian Petrica, Mariana Grigore, Alina Avram, Ion Popescu, Olga Simionescu. A Conservative Combined Laser Cryoimmunotherapy Treatment vs. Surgical Excision for Basal Cell Carcinoma. *Journal of Clinical Medicine.* 2022, 11(12): 3439. Indexare ISI (Web of Science) și PubMed. FI=3.9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35743507/>
5. **Lucian G. Scurtu**, Mariana Costache, Daniela Opreș-Belinski, Olga Simionescu. Hypocomplementemic Urticarial Vasculitis Associated With Hashimoto's Thyroiditis and Hepatitis B Virus Infection: A Case Report. *Cureus.* 2022, 14(9):e29643. Indexare ISI (Web of Science) și PubMed. FI=1.2. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36320953/>