

EFECTELE BIOLOGICE ALE TOXINELOR UREMICE

Biological effects of uremic toxins

Dr. Corina Daniela Ene¹, Prof. Dr. Mircea Penescu¹, Prof. Dr. Emanoil Ceaușu²,
Dr. Ilinca Nicolae²

¹Spitalul Clinic de Nefrologie „Carol Davila“, București, România

²Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Victor Babeș“, București, România

REZUMAT

Acumularea progresivă a toxinelor uremice în organism exercită o varietate de efecte nocive asupra tuturor organelor, țesuturilor și sistemelor. Eliminarea acestor compuși din organism este un deziderat major al comunității științifice internaționale. În acest context, obiectivele studiului prezent sunt reprezentate de: clasificarea toxinelor uremice, prezentarea efectelor nocive induse la pacienții uremici. Această lucrare este orientată în direcția identificării tulburărilor provocate de toxinele uremice asupra metabolismului și microcirculației și găsirea unor noi strategii terapeutice pentru a evita dezvoltarea complicațiilor la pacienții uremici.

Cuvinte cheie: toxine uremice, efecte biologice, inflamație, stres oxidativ, transdiferențiere celulară

ABSTRACT

Progressive accumulation of uremic toxins in the body exerts a variety of adverse effects on all organs, tissues and systems. The elimination of these compounds from the body is a major goal in the international scientific community. The objectives of this study are: uremic toxins classification, presentation of nocive effects of uremic toxins in human body. This paper is focused on identifying the disorders induced by uremic toxins on metabolism and microcirculation and on finding new therapeutic strategies to prevent the development of complications in uremic patients.

Keywords: uremic toxins, biological effects, inflammation, oxidative stress, cellular transdifferentiation

INTRODUCERE

Toxinele uremice sunt compuși organici nocivi care se acumulează treptat în organism odată cu declinul funcției renale și/sau apariția proteinuriei. În condiții normale, aceste deșeuri uremice sunt excretate prin rinichi. Filtrul glomerular permite eliminarea compușilor cu greutate moleculară mai mică de 58KDa. Creșterea progresivă a nivelului toxinelor uremice în organism exercită un impact negativ asupra funcțiilor biologice. (1-3)

În baza de date actuală, elaborată de grupul de experți europeni EUTox (<http://eutoxdb.odeesoft.com/index.php>), sunt incluse 152 de toxine uremice, iar numărul acestora este în creștere. Pentru a fi introdus în baza EUTox, un derivat uremic trebuie să îndeplinească următoarele cerințe (4-7):

- structură chimică cunoscută;
- determinare cantitativă cu precizie;
- concentrația în plasmă sau țesuturi să fie semnificativ crescută la pacienții uremici față de persoane nonuremice;

Autor corespondent:

Dr. Corina Daniela Ene, Spitalul Clinic de Nefrologie „Carol Davila“, Calea Griviței nr. 4, București

E-mail: koranik85@yahoo.com

- prezența toxinelor uremice în organism să fie asociată cu instalarea disfuncțiilor sau simptomelor specifice;
- normalizarea toxinelor uremice în plasma pacienților uremici să fie asociată cu dispariția manifestărilor clinice cauzată de acestea;
- activitatea biologică a toxinelor uremice să fie demonstrată *in vivo*, *in vitro*, pe modele animale și în studii clinice.

La ora actuală, cele mai cunoscute metode analitice de cuantificare a toxinelor uremice sunt reprezentate de tehnicile imunoenzimatică, cromatografică, spectrofotometrică, fluorometrică, nefelometrică, radioimunometrică, chemiluminiscență, RMN, spectrometrie de masă, proteomică, genomică. Concentrația molară a compușilor uremici variază de la câțiva picomoli/litru (pentru interleukine) la câțiva micromoli/litru (pentru acidul fenilacetic). (3,5,6)

CLASIFICAREA TOXINELOR UREMICE

Compușii uremici se diferențiază prin proprietățile fizico-chimice (solubilitate în apă, greutatea moleculară, capacitatea de a se lega de proteine, modul de a se îndepărta prin dializă), structura chimică, activitatea biologică, potențialul de a produce manifestări fiziopatologice în organism, proveniența. (5-7)

Grupul de experți EUTox a propus clasificarea toxinelor uremice, pe baza particularităților fizico-chimice și a comportamentului acestora la dializă convențională, în trei grupe principale: compuși uremici cu greutate moleculară mică solubili în apă, compuși cu greutate moleculară medie și compuși uremici hidrosolubili sau liposolubili legați de proteine transportoare. (1-8)

Toxinele uremice cu greutate moleculară scăzută prezintă următoarele caracteristici: sunt hidrosolubile, au greutatea moleculară sub 0,5 KDa, sunt ușor de îndepărtat prin dializă, nu prezintă efecte nocive demonstrate asupra organismului. Moleculele reprezentative pentru această clasă sunt: ureea, creatinina, guanidina, oxalat, fosfor, acid uric, guanidinoacetat, guanidinosuccinat, acid hialuronic, oxalat, acid uric, fosfat anorganic, ADMA (dimetilarginina asimetrică), SDMA (dimetilarginina simetrică), MMA (monometilarginină). Reprezintă 46% din totalul toxinelor uremice cuprinse în lista EUTox. Din punct de vedere al structurii chimice, acești compuși pot fi grupați astfel (3,7):

- compuși carbonil reactivi: 2-heptenal, 2-hexenal, 2-nonenal, 2-octenal, 4-decenal,

4-OH-decenal, 4-OH-hexenal, 4-OH-nonenal, 4-OH-octenal, decenal, heptanal, hexanal, nonanal, malondialdehidă;

- nicotinamide: 4-piridona-3-carboxiamida-1beta-D-ribonucleozide, nicotinamidă, N-metil-2-piridona-5-carboxiamidă, N-metil-4-piridona-3-carboxiamidă;
- aminoacizi: cisteină;
- amine: dimetilamină, etilamină, monometilamină, trimetilamină, N-oxid-trimetilamină;
- catecolamine: noradrenalină;
- ribonucleozide: 1-metiladenozină, 1-metilguanozină, 1-metilinozina, N,N-dimetilguanozină, N-acetilcitidină, N-metiladenozină, N-treonilcarbamoiladenozină, pseudouridină, xantozină;
- guanidine: ADMA, acid alfa-ceto-delta-guanidinovaleric, alfa-N-acetilarginină, acid argininic, acid beta-guanidinopropionic, creatinină, creatină, acid gama-guanidinobutiric, guanidină, acid guanidinoacetic, acid guanidinosuccinic, metilguanidină, SDMA, taurocicianamină;
- polioli: arabinitol, eritritol, manitol, treitol, sorbitol;
- peptide: beta-lipotropină;
- purine: citidină, xantină, hipoxantină, uracil, acid uric, 8-hidroxi-2-deoxiguanozină, neopterină;
- pirimidine: orotidină, acid orotic, timină, uridină.

Semnele urotoxice din diabetul zaharat și nefropatia diabetică constituie un domeniu incitant de studiu. Pentru a preveni sau a întârzia progresia complicațiilor microvasculare ale diabetului, inclusiv nefropatia diabetică, se dozează frecvent constituentii azotați din sânge, cum ar fi ureea, creatinina și acidul uric. (9-13) Concentrația serică a ureei variază cu alimentația proteică și perfuzia renală. În prezența diurezei, redifuzia ureei în sânge din tubii renali distali este minimă. În prezența antidiurezei, ureea redifuzează din tubii distali în sânge, iar nivelul seric al ureei crește. Niveluri persistente crescute ale ureei serice indică alterarea semnificativă a ratei filtrării glomerulare la pacienții cu nefropatie diabetică. (9,10,12) Creatinina serică este un indicator mai fidel al funcției renale decât ureea. Creșterea creatininei serice se înregistrează în afecțiuni glomerulare și tubulointerstițiale, în obstrucții ale tractului urinar, în scăderea perfuziei renale. (7,10,12,14) Hiperuricemia este un factor de risc metabolic și poate sta la baza insuficienței renale. (10)

La persoanele cu nefropatie diabetică, hiperglicemia alterează o serie de căi metabolice: glicozidi-

larea substraturilor organice, activarea căii polioli, creșterea producției de radicali liberi, scăderea capacității antioxidante. (10-12,14,18) La început se formează produși timpurii de glicare (baze Schiff, aduct Amadori), care pot suferi ciclizări, rearanjări, degradări oxidative, nitrozilări, cu formarea produșilor finali de glicare avansată (AGEs). Într-un studiu recent, autorii au adus dovezi convingătoare că fenotipul glicosfingolipidelor este perturbat la pacienții cu nefropatie diabetică. Nivelul gangliozidelor circulante (glicosfingolipide ce conțin acid sialic în lanțul oligozaharidic) a fost influențat de indicatorii moleculari care evidențiază alterarea funcției renale. Astfel, la pacienții diabetici, fără complicații cardiovasculare, renale sau retiniene, s-a obținut o corelație pozitivă semnificativă statistic între concentrația gangliozidelor circulante și nivelul hemoglobinei glicozilate, pe de o parte, și, pe de altă parte, între gangliozidele serice și creatininemie. La pacienții cu nefropatie diabetică s-a obținut o relație pozitivă între nivelul gangliozidelor serice și glicemie, hemoglobina glicozilată, uree, creatinină, microalbuminurie. Ca urmare, dozarea seriată a gangliozidelor circulante ar putea deveni un indicator util în monitorizarea pacienților cu nefropatie diabetică. (12)

O serie de date recente susțin efectele benefice ale nicotinei asupra organismului uman, concretizate în activități antiinflamatorii și renoprotectoare. (12,13,15,19,20) O serie de constatări experimentale ale autorilor sprijină ipoteza că nicotina și flavonoizii au efecte pozitive în reducerea inflamației și în limitarea leziunilor renale cauzate de hiper-glicemie la șobolani Wistar cu diabet aloxanic indus experimental. (12,13)

Aceste efecte se pot realiza prin reglarea sintezei de citokine și prin reducerea lipoperoxidării. (14,15)

Toxinele uremice cu greutate moleculară mijlocie au o greutate moleculară cuprinsă între 0,5 și 60 kDa, sunt greu de îndepărtat prin dializa convențională, însă pot fi îndepărtate prin membrane de dializă speciale (cu pori mari), exercită efecte negative asupra unor sisteme și țesuturi din organism. Principalele molecule reprezentative pentru acest grup sunt: beta-2-microglobulină, PTH, AGE, FGF23, leptină, rezistină, endotelină, adiponectină. Reprezintă 28% dintre compușii uremici catalogați de EUTox. Pe baza similarităților structurale, acești compuși pot fi grupați în (3,7):

- proteine: adrenomedulina, peptidul atrial natriuretic, beta-2-microglobulina, endorfina, colecistokinina, clara cell protein, cistatina, factorul inhibitor al degranulării, delta-sleep

factor inhibitor, endotelina, acidul hialuronic, imunoglobuline, leptina, metionin-encefalina, neuropeptidul Y, PTH, proteina de legare a retinolului, rezistina, alfa1-glicoproteina acidă, alfa1-microglobulina, adiponectina, angiogenina, calcitonina, complement D, cistatin C, FGF23, IGF-1, mioglobina, osteocalcina, prolactina, molecule de adeziune intercelulară, peptida intestinală vasoactivă;

- citokine: IL-1beta, IL-6, IL-8, IL-10, TNFalfa.

Autorii au constatat modificarea concentrației mediatorilor proinflamatori în diferite condiții patologice. (14,21,22)

Toxinele uremice legate de proteine transportoare au greutate moleculară variabilă, circulă legate de proteine (albumină), sunt non-dializabile, inhibă competitiv legarea medicamentelor la albumină, exercită o varietate de efecte toxice asupra organismului. Principalele molecule reprezentative sunt crezoli, crezil-sulfati, indolul, homocisteina. Reprezintă 25% din compușii incluși în baza de date EUTox. În funcție de particularitățile structurale, compușii uremici incluși în acest grup pot fi grupați în (3,7):

- fenoli: 2-metoxirezorcinol, hidrochinonă, p-crezol, fenol, crezil-sulfat;
- AGE: 3-deoxiglucuronă, fructozolizina, glioxal, metilglioxal, N-carboximetilizina, penozidină;
- derivați hipurici: acid hipuric, acid hidroxihipuric;
- indoli: acid indol-3-acetic, indoxil-sulfat, kinurenină, acid kinurenic, melatonină, acid kinolinic, indican, indoxil-beta-D-glucuronid;
- proteine: leptină, proteină de legare a retinolului;
- poliamine: putresceină, spermină, spermidină;
- aminoacizi: homocisteină;
- catecolamine: dihidroxifenilalanină;
- compuși carbonilici reactivi: acroleină.

Creșterea factorilor chemotactici derivați din lipide și a compușilor carbonilici reactivi a fost relată de către autori în diverse stări patologice. (12,13,22,23)

Proveniența toxinelor uremice este variată. Ele pot fi de origine exogenă, dar și endogenă. Astfel, metabolismul celular, metabolismul bacterian, dieta, prelungirea duratei de tranzit a proteinelor în spațiul intestinal, clearance-ul renal scăzut, generalizarea răspunsului inflamator reprezintă principalele surse de producere și acumulare a acestor deșeuri în organism.

Toxicitatea compușilor uremici prezintă, de asemenea, o mare heterogenitate. (1,2,5,24,25) *In*

in vitro, folosind modele celulare, s-a dovedit că AGE se produc în cursul procesului de îmbătrânire și pot fi utilizați ca biomarkeri pentru evaluarea stresului oxidativ. În celulele intestinale se produc derivați indolici și fenolici, cu efecte adverse asupra colonului, rinichiului, ficatului, creierului, endoteliului. La nivelul celulelor endoteliale sinteza compușilor uremici (ADMA, AGE, ICAM-1, fosfat anorganic) poate fi asociată cu dezvoltarea bolilor cardiovasculare. Compușii uremici produși la nivelul celu-

lor musculare vasculare (TNFalfa, leptina, guanidina, AGE, indoxil-sulfat) accelerează progresia aterosclerozei. Toxinele generate la nivelul hepatocitelor (citokine proinflamatorii, alfa1-glicoproteina acidă, neopterină, calcitonină, CRP, alfa2-microglobulină, fibrinogen, mieloperoxidază, AGE) se asociază cu alterarea metabolismului și răspuns de fază acută. Creșterea sintezei compușilor uremici la nivelul fibroblastelor (indoxil-sulfat, cresil-sulfat) atenționează asupra fibrozei. Compușii uremici ge-

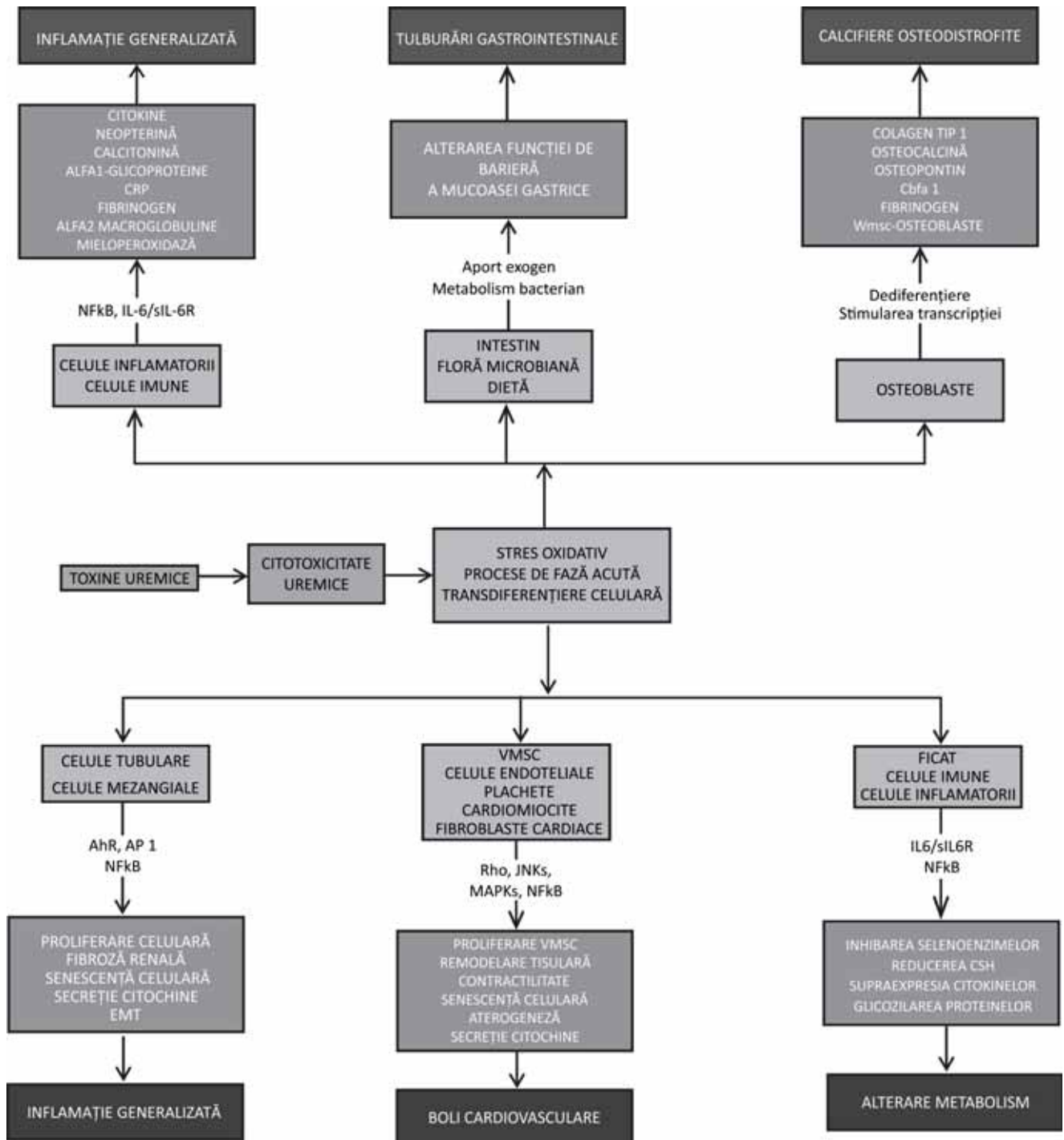


FIGURA 1. Efectele citotoxice ale toxinelor uremice

nerați la nivelul osteoblastelor (cresil-sulfat, PTH) pot fi utilizați ca biomarkeri pentru osteodistrofia renală. (5,6)

ACTIVITĂȚI BIOLOGICE

Toxinele uremice afectează toate sistemele, organele și țesuturile din organism, determinând disfuncții renale acute și cronice, boli cardiovasculare, boli hepatorenale, ateroscleroză, fibroză, alterarea metabolismului, perturbarea funcției de barieră a mucoasei gastrice (Fig. 1).

O serie de observații epidemiologice și experimentale coroborate (1,2,5,6,8,10,11,17,22-25) au permis sistematizarea următoarelor acțiuni ale toxinelor uremice asupra organismului:

– **Sistemul nervos central:** tulburări de concentrare, crampe, demență, depresie, oboseală, dureri de cap, slăbiciune motorie, polinevrite, sociabilitate redusă, sindromul picioarelor neliniștite, tulburări de somn (5,6,17).

– **Sistemul imun:** sinteza inadecvată de anticorpi, stimularea inflamației, sensibilitate la infecții, tumorigeneză (10,11,18,23).

– **Sistemul endocrin:** dislipidemie, intoleranță la glucoză, hiperparatiroidism, hipogonadism, disfuncții erectile, scăderea libidoului, reducerea producției T3, disfuncția glandei tiroide prin inactivarea deiodinazelor via transemnalizării mediate de IL6-IL6R solubil (2,5,6,9-12,14,15).

– **Sistemul osos:** boală osoasă dinamică, alterarea metabolismului calcitriolului, osteită fibroasă, osteomalacie, osteoporoză, amiloidoză beta2-microglobulinică (4-6).

– **Pielea:** melanoză, prurit, uscăciunea pielii, paloare galben teroasă, papule (uremide), depunere de cristale (uremic frost), eriteme urticariene, manifestări hemoragipare diverse (5-7,21-25).

– **Disfuncții pulmonare:** leziuni pulmonare, sensibilitate la infecții (5,6,11).

– **Sistemul gastrointestinal:** anorexie, dispepsie, ulcerații gastrointestinale, proliferarea agenților patogeni, sughiț, greață, vărsături, pancreatită, alterarea funcției de barieră a mucoasei intestinale (2,4,5,6).

– **Sistemul respirator:** pleurită, emfizem, sindromul de apnee în somn (5,6).

– **Sistemul vascular:** creșterea rigidității vaselor de sânge asociată cu pierderea conformației peretelui vascular, promovarea calcifierii vasculare, reducerea glutatoniului, anomalii în repararea vaselor, activarea leucocitelor, alterarea adeziunii endoteliale, creșterea migrației și a proliferării celulelor musculare netede vasculare (VMSC), tromboze,

destabilizarea plăcii ateromatoase, reducerea disponibilității NO, creșterea exprimării mediatorilor inflamatori și trombogenici vasculari, stimularea NFκB (4-6,9,12,15).

– **Rinichi:** insuficiență funcțională, inflamație renală, creșterea expresiei genice a citokinelor proinflamatorii, glomeruloscleroză, fibroză interstițială, consolidarea stresului oxidativ, tumorigeneză în tubii renali, alterarea producției de eritropoietină, generarea de factori antieritrogeni, perturbarea homeostaziei calciului, PTH, vitaminei D, activarea necorespunzătoare a sistemului renină-angiotensină, scăderea producției de NO, inactivarea NOS, stimularea recrutării leucocitelor, accelerarea sintezei speciilor reactive de oxigen în celulele tubulare renale și în celulele mezangiale, reducerea sistemelor antioxidante, rol inhibitor asupra deiodinazei-1, afectări cvasodilatație, agregarea plachetelor, adeziunea neutrofilelor, tonusul vascular, progresia aterogenezei, reducerea clearance-ului renal la citokine, acumularea AGE, hiperhomocistemie, promovarea semnalizării prin AhR, NFκB, AP-1, CREB. (1,2,4-8,10,12,13,15,16,19,20)

– **Sistem cardiac:** creșterea sintezei de colagen, alterarea structurii și funcției joncțiunilor gap, suprimarea contractilității mușchiului cardiac, ateromatoza, arterioscleroza, pericardita, hipo/hipertensiune, remodelarea cardiacă, activarea p38MAPK, Rho, p44/p42MAPK (1,2,4,5,6,8).

– **Sistem hematologic:** alterarea producției de eritropoietină cu consecințe asupra hematopoiezei, răspunsului inflamator, sintezei de antioxidanți, apoptozei, procesului de coagulare (5,6,8,9,14,22).

– **Ficat:** alterarea metabolismului, supraexpresia mediatorilor proinflamatori (IL-1, IL-6, CRP, TNF), reducerea nivelului intracelular al GSH, inactivarea GSH-Px, SOD și deiodinazelor (2,5,6,10,12,15,16,20-22).

Reducerea sau prevenirea efectelor nocive cauzate de sinteza continuă a toxinelor uremice în organism reprezintă o preocupare majoră a comunității științifice internaționale. Aceste obiective se pot realiza prin: optimizarea tehnicilor de dializă, hemodiafiltrare, păstrarea funcției renale, reducerea generării toxinelor uremice în intestin, reducerea absorbției din intestin. (7)

CONCLUZII

Acumularea progresivă a deșeurilor toxice în organism provoacă alterarea metabolismului și a funcționării normale a tuturor sistemelor, organelor și țesuturilor. Pattern-urile caracteristice ale modi-

ficării concentrațiilor plasmatică a unor toxine uremice ar putea reprezenta markeri serologici specifici în identificarea acelor pacienți cu risc mai mare de a dezvolta complicații renale și vasculare. Reducerea sintezei toxinelor uremice și stimularea excreției acestora reprezintă criterii importante în stabilirea atitudinii terapeutice la pacienții uremici.

Notă: Această lucrare a beneficiat de suport financiar prin proiectul „Cero – profil de carieră: cercetător român“, contract nr. Posdru/159/1.5/S/135760, proiect cofinanțat din Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013.

BIBLIOGRAFIE

1. Hsu H.Y., Yen C.H., Wu I.W. et al. The association of uremic toxins and inflammation in hemodialysis patients. *PlosOne* 2014:e101371.
2. Xu G., Tu W., Qin S. The relation between deiodinase activity and inflammatory responses under stimulation of uremic toxins. *J. Trans. Med.* 2014; 12:239.
3. Duranton F., Cohen G., Smet R. et al. Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2012; 23(7): 1258-70.
4. Barretto F.C., Stinghen A.E., Oliveira R.B. et al. Te quest for a better understanding of chronic kidney disease complications: an update on uremic toxins. *J. Bras. Nefrol.* 2014; 36(2):221-35.
5. Lisowska-Myjak B., Skarzynska E. Role of uremic compounds in organ injury. *J. Nephrol. Ther.* 2015; 5:3.
6. Lisowska-Myjak B. Uremic toxins and their effects multiple organ systems. *Nephron. Clin. Prat.* 2014; 128:303-311.
7. Glorieux G., Tattersall J. Uraemic toxins and new methods to control their accumulation :game changers for the concept of dialysis adequacy. *Clin. Kidney J.* 2015; e101093.
8. Lekawanvijit S., Krum H. Cardiorenal syndrome: role of protein-bound uremic toxins. *J. Renal Nutrition* 2015; 25(2):149-154.
9. Sah J.P., Yadav C.K., Yadav D.K. Assessment of hs-CRP with serum urea in type-2 diabetic patients in Pokhara, Nepal. *Am. J. Drug Delivery Ther.* 2015; 2(2):053-059.
10. Amartey N.A.A., Nsiah K., Mensah F.O. Plasma levels of uric acid, urea, and creatinine in diabetics who visit the clinical analysis laboratory. *J. Clin. Iagn. Res.* 2015; 9(2):BC05-BC09.
11. Cohen G., Horl W.H. Immune dysfunction in uremia – an update. *Toxins.* 2012; 4:962-990.
12. Ene C.D., Penescu M., Anghel A.E., Neagu M., Budu V., Nicolae I. **Monitoring diabetic nephropathy by circulating gangliosides.** *J. Immunoass. Immunochem.* 2015; ID 1050107.
13. Ene C.D., Penescu M., Costea T., Nicolae I. Abnormal serum levels of nitrotyrosine – associated proteins and renal protective potential of polyphenol extracts in Wistar rats with experimentally induced diabetes. *Diabetes Basic Research – NDT* 2015; 30(3): e219-e228.
14. Ene C.D., Costea T., Nicolae I. Aberrant GSTpi activity in rats with experimentally induced diabetes mellitus. *Proceeding Interdiab-Interdisciplinary Approches in Diabetic Chronic Kidney Disease.* Ed. Niculescu 2015:200-208.
15. Ene C.D., Penescu M., Nicolae I. Renoprotective effects of nicotine in rats with experimentally induced diabetes. *Conference on Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Related Diseases* 2015; e155.
16. Ene C.D., Nicolae I., Penescu M. Interleukina 8 in lupus eritematos sistemic. *Congresul de Nefrologie* 2015; Iași.
17. Watanabe K., Watanabe T., Nakayama M. Cerebro-renal interaction: impact of uremic toxins on cognitive function. *Neurotoxicology* 2014; 44:184-93.
18. Ene C.D., Anghel A.E., Nicolae I. Interleukin 8 and diabetic nephropathy. *HVM Bioflux* 2015; 7(4).
19. Ene C.D., Penescu M., Nicolae I., Ceausu E. Anti-inflammatory effects of nicotine. *Ro. J. Infect. Dis.* 2015; 18(1):5-12.
20. Ene C.D., Penescu M., Nicolae I., Ceausu E. Renoprotective effects of nicotine. *Ro. J. Infect. Dis.* 2015; 18(2-3):53-59.
21. Ene C.D., Anghel A.E., Neagu M., Nicolae I. 25-OH-Vitamin D and interleukin 8: Emerging biomarker in cutaneous melanomas development. *Mediat. Inflamm.* 2015; ID 904876.
22. Ene C.D., Nicolae I., Musetescu A. et al. Exposure to haevy metals in plastic industry and dyes risk factor in the development of skin cancer. *Materiale plastice* 2014; 51(2):180-184.
23. Ene C.D., Ceausu E., Nicolae I. et al. Ultraviolet radiation, vitamin D and autoimmune disorders. *Rev. Chim. Buc.* 2015; 66(7):1068-1074.
24. Dinu L., Ene C.D., Nicolae I. et al. The serum levels of 8-hidroxi-deoxi-guanosine under the chemicals influence. *Rev. Chim. Buc.* 2014; 65(11):1319-1326.
25. Nicolae I., Ene C.D., Tampa M. et al. Effects of UV radiations and oxidative DNA adduct 8-hidroxi-deoxi-guanosine on the skin diseases. *Rev. Chim. Buc.* 2014; 65(9):1036-1041.