



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**“Efecto quimioprotector del  
verbascósido en el desarrollo de  
neoplasias en piel de ratones SKH-1”**

T E S I S

Que para obtener el título de

B I Ó L O G A

P R E S E N T A

*Cecilia Martínez Bailón*

DIRECTOR DE TESIS:

**Dr. José Guillermo Avila Acevedo**

SINODALES:

**Dr. Ignacio Peñalosa Castro**

**Dra. Ana María García Bores**

**M. en C. María del Socorro Sánchez Correa**

**M. en C. José del Carmen Benítez Flores**



IZTACALA

2012



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Este trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Fitoquímica de la Unidad de Biotecnología y Prototipos en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. José Guillermo Avila Acevedo y con el soporte del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT-DGAPA, UNAM) IN213309.

# TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
<b>1 RESUMEN</b> .....	1
<b>2 INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<b>3 MARCO TEÓRICO</b> .....	3
3.1 Piel.....	3
3.1.1 Anatomía.....	3
3.1.2 Embriología .....	3
3.1.3 Histología .....	4
3.1.3.1 Epidermis .....	5
3.1.3.2 Unión dermoepidérmica.....	7
3.1.3.3 Dermis .....	8
3.1.3.4 Hipodermis .....	9
3.1.4 Componentes químicos de la piel .....	10
3.1.5 Funciones de la piel.....	10
3.1.6 Protección de la piel contra la radiación solar .....	10
3.2 Radiación solar y espectro electromagnético .....	12
3.2.1 La radiación ultravioleta (RUV).....	13
3.2.2 Factores que influyen en los niveles de RUV .....	14
3.3 Efectos de la radiación ultravioleta en la piel.....	15
3.3.1 Daños agudos y crónicos .....	18
3.4 Neoplasia.....	18
3.4.1 Neoplasias benignas.....	19
3.4.2 Neoplasias malignas .....	19
3.5 Cáncer.....	20
3.5.1 Etapas de la carcinogénesis .....	20

3.5.2	Cáncer de piel.....	21
3.5.2.1	Etiología .....	22
3.5.2.2	Carcinoma basocelular .....	24
3.5.2.3	Carcinoma espinocelular.....	24
3.5.2.4	Melanoma .....	25
3.5.2.5	Epidemiología del cáncer de piel .....	26
3.5.2.6	El cáncer de piel en México.....	27
3.6	Fotoprotección.....	28
3.6.1	Fotoquimioprotección .....	29
3.6.2	Protectores solares.....	30
3.7	Medicina natural .....	30
3.7.1	Productos naturales en la fotoquimioprevención.....	31
3.7.2	<i>Buddleja cordata</i> Kunth .....	31
3.7.3	Verbascósido .....	32
<b>4</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	34
<b>5</b>	<b>HIPÓTESIS</b> .....	34
<b>6</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	35
6.1	Objetivo general .....	35
6.2	Objetivos particulares.....	35
<b>7</b>	<b>ESTRATEGIA EXPERIMENTAL</b> .....	36
7.1	Aislamiento del verbascósido .....	37
7.2	Determinación del espectro de absorción del verbascósido .....	37
7.3	Animales .....	37
7.4	Fuente de luz UV-B .....	38
7.5	Experimento crónico con ratones SKH-1 .....	38
7.6	Procesamiento histológico.....	39
7.7	Diagnóstico histopatológico .....	39
7.8	Análisis estadístico .....	40

<b>8 RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	41
<b>9 CONCLUSIONES</b> .....	68
<b>10 PERSPECTIVAS</b> .....	69
<b>11 ANEXOS</b> .....	70
11.1 <i>Buddleja cordata</i> Kunth ssp. <i>cordata</i> .....	70
11.2 Técnica histológica .....	73
11.3 Tabla de daños en piel de ratones SKH-1 .....	81
<b>12 REFERENCIAS</b> .....	82

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Página</b>
<b>1.</b> Origen embrionario de las estructuras de la piel .....	3
<b>2.</b> Capas de la piel .....	5
<b>3.</b> Funciones de la piel .....	10
<b>4.</b> Clasificación de la radiación ultravioleta .....	13
<b>5.</b> Origen y denominación de los tumores malignos de la piel .....	22
<b>6.</b> Clasificación de los fototipos cutáneos .....	23
<b>7.</b> Sistema de estadificación de Broders para carcinoma espinocelular .....	25
<b>8.</b> Tumores malignos que se presentan con mayor frecuencia .....	27
<b>9.</b> Principales neoplasia malignas en México por sexo .....	27
<b>10.</b> Principales neoplasias malignas por grupos especiales de edad .....	28
<b>11.</b> Principales agentes fotoprotectores .....	29

<b>12.</b>	Fraccionamiento del extracto de <i>Buddleja cordata</i> .....	37
<b>13.</b>	Grupos para evaluar el efecto fotoprotector del verbascósido .....	38
<b>14.</b>	Clasificación de las lesiones observadas en la piel de ratones SKH-1 ...	39
<b>15.</b>	Incidencia y multiplicidad de neoplasias en ratones SKH-1 .....	45
<b>16.</b>	Análisis de varianza para la variable de tumores por ratón.....	46
<b>17.</b>	Análisis de varianza para el diámetro de tumores.....	51
<b>18.</b>	Daños provocados por la RUV observados en la piel de ratones SKH-1	55
<b>19.</b>	Clasificación de las lesiones observadas en la piel de ratones SKH-1 ...	61
<b>20.</b>	Análisis de varianza para el diagnóstico histopatológico.....	64
<b>21.</b>	Resumen de los daños presentados en los grupos experimentales .....	81

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
<b>1.</b> Estructura de la piel .....	4
<b>2.</b> Estratos y células de la epidermis.....	7
<b>3.</b> Componentes de la unión dermoepidérmica.....	8
<b>4.</b> Interacción de la RUV y radiación visible con la piel .....	11
<b>5.</b> Espectro electromagnético.....	13
<b>6.</b> Índice de irradiación UV a nivel mundial .....	15
<b>7.</b> Pasos generales en la respuesta de la piel a la RUV .....	16
<b>8.</b> Estructura de los daños en el ADN inducidas por RUV .....	17
<b>9.</b> Transformación del ácido urocánico por la RUV.....	18

<b>10.</b>	Formación de una neoplasia .....	19
<b>11.</b>	Etapas de la carcinogénesis .....	21
<b>12.</b>	Niveles de Clark e índice de Breslow para melanoma maligno .....	26
<b>13.</b>	Estructura química del verbascósido .....	32
<b>14.</b>	Diagrama de flujo para la obtención del verbascósido .....	36
<b>15.</b>	Diagrama de flujo del experimento crónico .....	36
<b>16.</b>	Ratón con cúmulo anormal de queratina .....	43
<b>17.</b>	Estructura química del glicerol .....	44
<b>18.</b>	Ratones del grupo testigo.....	48
<b>19.</b>	Ratones del grupo vehículo.....	48
<b>20.</b>	Ratones del tratamiento UV .....	49
<b>21.</b>	Ratones del tratamiento vehículo/UV.....	49
<b>22.</b>	Ratones del tratamiento verbascósido I .....	50
<b>23.</b>	Ratones del tratamiento verbascósido II.....	50
<b>24.</b>	Cortes histológicos de la piel de ratones SKH-1 .....	52
<b>25.</b>	Corte histológico de la piel normal de ratones SKH-1.....	54
<b>26.</b>	Daños provocados por RUV (1) .....	56
<b>27.</b>	Daños provocados por RUV (2) .....	57
<b>28.</b>	Daños provocados por RUV (3) .....	58
<b>29.</b>	Cortes histológicos de la piel de ratones de los diferentes grupos.....	60
<b>30.</b>	Clasificación de las lesiones observadas en piel de ratones SKH-1 .....	62
<b>31.</b>	Morfología de <i>Buddleja cordata</i> H.B.K. ssp. <i>cordata</i> .....	71
<b>32.</b>	Distribución geográfica en México de <i>Buddleja cordata</i> ssp. <i>cordata</i> .....	72
<b>33.</b>	Diagrama de flujo de la técnica histológica .....	73

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

<b>Gráfica</b>	<b>Página</b>
<b>1.</b> Distribución porcentual de los tipos más frecuentes de cáncer de piel .	28
<b>2.</b> Peso de los ratones durante el tratamiento.....	42
<b>3.</b> Incidencia de tumores.....	45
<b>4.</b> Multiplicidad de tumores.....	46
<b>5.</b> Promedio de neoplasias por ratón en cada tratamiento .....	47
<b>6.</b> Diámetro promedio de las neoplasias por grupo.....	51
<b>7.</b> Porcentaje de lesiones en el grupo UV .....	63
<b>8.</b> Porcentaje de lesiones en el tratamiento vehículo/UV.....	63
<b>9.</b> Porcentaje de lesiones en el tratamiento con verbascósido .....	64
<b>10.</b> Diagnóstico histológico .....	65

## NOMENCLATURA

<b>ADN</b>	Ácido desoxiribonucleico
<b>AQP's</b>	Acuaporinas
<b>AQP-3</b>	Acuaporina 3
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico
<b>CBC</b>	Carcinoma basocelular
<b>CEC</b>	Carcinoma espinocelular
<b>CFC's</b>	Compuestos fluorocarbonados
<b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH</b>	Diclorometano-Metanol
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>COX-2</b>	Ciclooxigenasa 2
<b>CPD</b>	Dímeros de ciclobutano pirimidina (siglas en ingles)
<b>DME</b>	Dosis mínima de eritema
<b>EGCG</b>	Epigallocatequinas
<b>ERO</b>	Especies reactivas de oxígeno
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Cloruro férrico
<b>FPS</b>	Factor de protección solar
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de hidrógeno
<b>HCl</b>	Ácido clorhídrico
<b>IL-1</b>	Interleucina 1
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>J/cm<sup>2</sup></b>	Joules por centímetro cuadrado
<b>KCl</b>	Cloruro de potasio

<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	Fosfato dibásico de potasio
<b>mM</b>	Milimolar
<b>μl</b>	Microlitros
<b>NaCl</b>	Cloruro de sodio
<b>Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	Fosfato de sodio
<b>NH<sub>4</sub>OH</b>	Hidróxido de amonio
<b>nm</b>	Nanómetros
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxígeno molecular
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	Oxígeno singulete
<b>O<sub>2</sub><sup>o-</sup></b>	Superóxido
<b>O<sub>3</sub></b>	Ozono
<b>ODC</b>	Ornitina descarboxilasa
<b>•OH</b>	Radical hidroxilo
<b>PBS</b>	Bufer de fosfato sódico (siglas en ingles)
<b>pH</b>	Potencial de hidrógeno
<b>RUV</b>	Radiación ultravioleta
<b>SKH-1</b>	Skin Hairless Mouse tipo 1
<b>TNF</b>	Factor de necrosis tumoral (siglas en ingles)
<b>UDE</b>	Unión dermoepidérmica
<b>UV-A</b>	Ultravioleta tipo A (320-400 nm)
<b>UV-B</b>	Ultravioleta tipo B (290-320 nm)
<b>UV-C</b>	Ultravioleta tipo C (200-290 nm)



# Resumen

El cáncer de piel es una de las enfermedades más comunes en los humanos. Actualmente la incidencia de este padecimiento ha aumentado a un ritmo alarmante y la exposición a la radiación ultravioleta del sol es considerada uno de los factores etiológicos más importantes para su desarrollo. Recientemente las sustancias naturales de plantas han sido consideradas como un recurso potencial de protección solar debido a su capacidad de inhibir, retardar o revertir la fotocarcinogénesis. El propósito de este estudio fue determinar las propiedades fotoprotectoras del verbascósido en el desarrollo de neoplasias en piel de ratones SKH-1 inducidas por radiación ultravioleta. Se obtuvo un extracto metanólico de la planta *Buddleja cordata* y se aisló el verbascósido a través de métodos cromatográficos. Para evaluar el efecto fotoprotector de este compuesto se utilizaron ratones de la cepa SKH-1 los cuales fueron divididos en cinco grupos experimentales: testigo, vehículo, UV, vehículo/UV y verbascósido; los animales estuvieron expuestos a radiación ultravioleta por un periodo de 33 semanas donde se determinó la incidencia y multiplicidad en la formación de neoplasias. Finalmente los ratones fueron sacrificados y se tomaron muestras de piel para su diagnóstico hispatológico. Los resultados muestran que el grupo que presentó un mayor daño fue el de vehículo/UV donde las lesiones comenzaron a aparecer en la semana 22 del tratamiento, además mostró una mayor incidencia, multiplicidad y tamaño en los tumores, e histológicamente presentó el mayor número de carcinomas espinocelulares. Los grupos UV y verbascósido/UV manifestaron lesiones a partir de la semana 29; el tratamiento con verbascósido mostró un daño menor en cuanto a la incidencia, multiplicidad, diámetro de tumores y carcinoma espinocelular, mientras que el grupo UV presentó datos similares, sin embargo, no se encontraron carcinomas en el diagnóstico histológico. Por lo que el verbascósido puede ser considerado un compuesto fotoprotector contra el daño crónico inducido por la radiación ultravioleta en la piel de los ratones SKH-1.



# Introducción

**E**l sol es una estrella gaseosa formada principalmente por hidrógeno y helio, en su interior se llevan a cabo reacciones termonucleares, que generan una gran cantidad de energía que se dispersa en todas direcciones. De la radiación solar que alcanza la superficie de la tierra aproximadamente el 50% es luz visible, el 40% radiación infrarroja, y el 10% radiación ultravioleta (RUV).

La RUV es el principal factor causante de diversos padecimientos de la piel, éstos efectos nocivos se pueden dividir en agudos (quemaduras de sol o eritema, reacciones fototóxicas, fotoalérgicas, y fotosensibilidad) y crónicos (fotoenvejecimiento, cáncer de piel e inmunosupresión). Una forma de contrarrestar estos daños es la quimioprotección que se refiere al uso de sustancias sintéticas o naturales que ayudan a prevenir, retrasar o revertir los daños causados por la RUV. En este sentido los protectores solares son recomendados debido a que son capaces de absorber la radiación de manera eficiente.

En general, los agentes quimioprotectores actúan en dos niveles: a) protegen de los daños causados por la radiación ultravioleta y b) modulan las diferentes respuestas celulares a los rayos UV que pueden prevenir o detener la promoción tumoral y la progresión. Dentro de los fotoprotectores encontramos a las sustancias naturales extraídas de plantas, las cuales han sido consideradas como un recurso potencial de protección solar ya que algunas de ellas absorben la radiación ultravioleta y tienen actividad antioxidante.

Las plantas del género *Buddleja* son reconocidas mundialmente por ser utilizadas en la medicina tradicional. A la especie *Buddleja cordata* se le atribuyen diversos efectos medicinales como: analgésico, reparador de colapso uterino, enfermedades de los ojos, ayuda a sanar tumores, heridas y úlceras, para el tratamiento de la cirrosis, como reparador de la función biliar, además se utiliza como eupéptico, diurético, antipirético, purifica el cuerpo, astringente y antiséptico. La acción terapéutica de *B. cordata* ha sido atribuida a diversos compuestos, entre los que destaca el verbascósido del cual se han descrito sus propiedades biológicas como antioxidante, antiinflamatorio y fotoprotector.

Debido a todo lo anterior el presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar el efecto quimioprotector del verbascósido en el desarrollo de neoplasias en piel de ratones SKH-1 inducidas por RUV.

# *Marco Teórico*







### 3.1. La piel

La piel es un órgano fibroelástico complejo en su estructura y función que proporciona cobertura además de protección a los tejidos profundos, recibe estímulos del medio al cual está continuamente expuesto y posee múltiples funciones de vital importancia para la homeostasis del organismo [Dearborn, 2005; Falabella *et al*, 2002].

#### 3.1.1. Anatomía

Un individuo de peso y estatura promedio está cubierto por 1.85 m<sup>2</sup> de piel, la cual pesa alrededor de 4 Kg (lo que equivale al 6% del peso corporal), tiene un volumen de 4,000 cm<sup>3</sup> y un espesor promedio de 2.2 mm; es más gruesa en las palmas de las manos así como en las plantas de los pies, más fina en los pliegues y más gruesa en el hombre que en la mujer. Este órgano presenta en su superficie 2.5 millones de orificios pilosebáceos y los llamados pliegues losángicos. Las faneras o anexos cutáneos son el pelo corporal, el cabello y las uñas [Arenas, 2005; Rodón *et al*, 2001].

#### 3.1.2. Embriología

La piel y sus anexos proceden de dos capas embrionarias distintas: el ectodermo y el mesodermo (Cuadro 1) [Amado, 2001]. La epidermis y la dermis se forman a partir del primer mes de vida intrauterina y al quinto ya están desarrolladas. Al tercer mes se forman las uñas junto con los pelos, posteriormente las glándulas sebáceas y sudoríparas. El tejido celular subcutáneo empieza a formarse al cuarto mes, hasta quedar constituido entre el octavo y noveno. Los melanocitos derivan de la cresta neural; a la cuarta semana emigran hacia la piel a la que llegan a la décima semana. Los pelos son visibles al quinto mes [Arenas, 2005].

**Cuadro 1.** Origen embrionario de las estructuras de la piel [Arenas, 2005].

Ectodermo	Queratinocito
	Melanocito (cresta neural)
	Folículo piloso
	Glándulas sebáceas
	Glándulas sudoríparas
	Uñas
	Nervios, células de Merkel

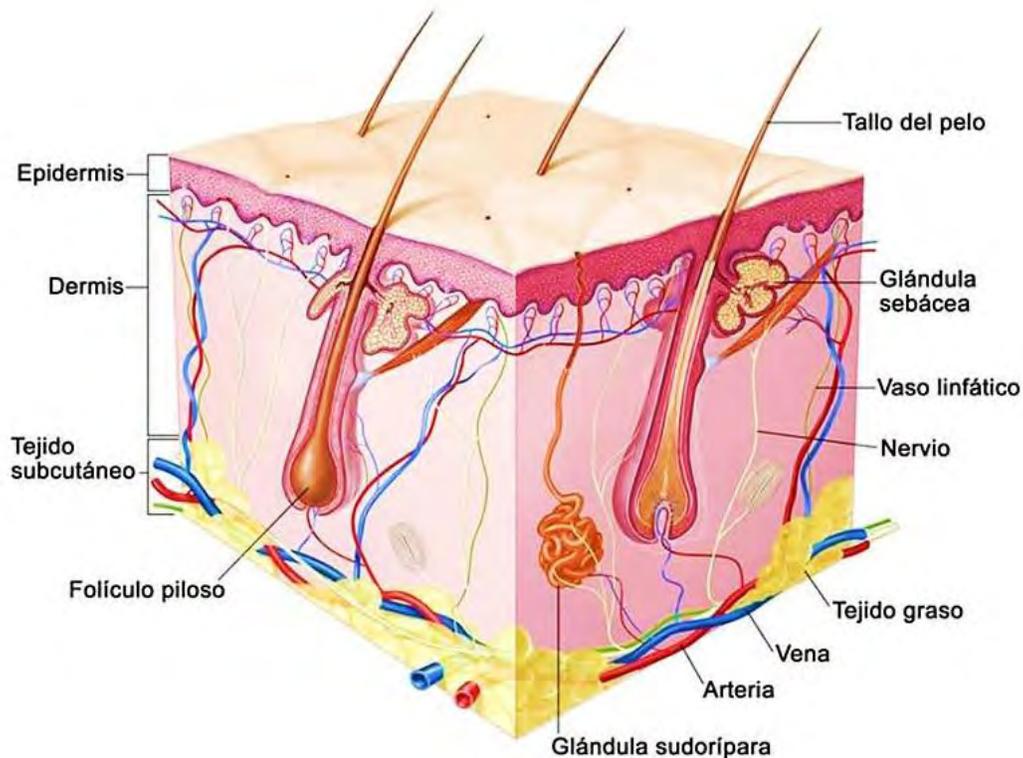
---

Mesodermo	Fibras colágenas, elásticas y reticulares Células de Langerhans Músculo erector del pelo Vasos sanguíneos Fibroblastos, mastocitos, histiocitos
-----------	---

---

### 3.1.3. Histología

Desde el punto de vista histológico podemos distinguir tres capas en la piel denominadas: epidermis, dermis e hipodermis o tejido celular subcutáneo, cada una de ellas formada por diferentes estratos; bajo la hipodermis se encuentran la aponeurosis, vainas tendinosas y huesos (Figura 1) (Cuadro 2) [Amado, 2001].



**Figura 1.** Estructura de la piel.

**Fuente:** <http://visualsonline.cancer.gov/details.cfm?imageid=7288>.



**Cuadro 2.** Capas de la piel [Amado, 2001].

Capas de la piel	Estrato
Epidermis	Córneo
	Granuloso
	Espinoso
	Basal
Lámina basal	
Dermis	Papilar
	Reticular
	Profunda
Hipodermis	

### 3.1.3.1. Epidermis

La epidermis está compuesta por un epitelio escamoso y poliestratificado en constante renovación que se queratiniza y da origen a varias estructuras (foliculos pilosebáceos, uñas, glándulas apócrinas y glándulas sudoríparas). Su grosor es de aproximadamente 0.4 a 1.5 mm; la mayor parte de las células epidérmicas son queratinocitos<sup>1</sup> organizados en cinco capas denominadas de acuerdo con la posición que ocupan y a sus propiedades estructurales (Figura 2) [Puig, 2009; Chu *et al*, 2005]. Así del interior al exterior encontramos los siguientes estratos:

**Basal o germinativo.** Constituido por una sola capa de células cilíndricas basófilas, los queratinocitos; de las cuales cerca del 50% se encuentran en mitosis. Aquí se inicia la proliferación de éstos. Los queratinocitos se unen entre sí por desmosomas, y a la membrana basal por hemidesmosomas. Cada cinco a diez queratinocitos se intercalan células dendríticas (melanocitos<sup>2</sup> y células de Langerhans<sup>3</sup>) y no dendríticas (células de Merkel<sup>4</sup>) [Arenas, 2005; Chu *et al*, 2005; Marie-Claude, 2005].

<sup>1</sup> Los queratinocitos representan el 80% de las células de la epidermis. Se denomina así por los filamentos de queratina que agrupados llenan completamente el citoplasma de las células en los estratos superficiales de la piel. Entre sus funciones destacan, además de la protectora, la inmunitaria, pues es capaz de sintetizar varias citocinas, como IL-1, IL-6 y TNF, en respuesta a diversos estímulos [Rodríguez-Peralto y Alonso, 2004].

<sup>2</sup> Los melanocitos son células dendríticas que se localizan exclusivamente a lo largo de la capa basal de la epidermis, contienen melanosomas y en su interior melanina, que se van a transferir mediante procesos dendríticos a los queratinocitos adyacentes, donde son fagocitados activamente. Además de servir como colorante de la piel y del pelo, la melanina protege a los queratinocitos de la epidermis y a las estructuras subyacentes de la acción lesiva de la radiación ultravioleta [Puig, 2009; Arenas, 2005; Marie-Claude, 2005].



**Espinoso o de Malpighi.** El cual está compuesto por varias capas de queratinocitos poliédricos unidos entre sí por puentes intercelulares o desmosomas que tienen una naturaleza proteica; las células mas superficiales de la capa espinosa son más grandes, aplanadas y contienen gránulos laminares<sup>5</sup>. En el citoplasma contienen tonofilamentos, que se agrupan en paquetes denominados tonofibrillas [Arenas, 2005; Chu *et al*, 2005; Marie-Claude, 2005].

**Granuloso.** Las células espinosas al aplanarse desarrollan gránulos de queratohialina (precursor de la queratina) en su citoplasma, dando origen a la capa granulosa. Ésta se caracteriza por un aumento de componentes necesarios para el proceso de apoptosis y la formación de una barrera superficial impermeable al agua [Arenas, 2005; Chu *et al*, 2005; Marie-Claude, 2005; Falabella *et al*, 2002].

**Lúcido.** Este estrato consiste en una zona de transición entre la capa granulosa y la capa córnea, sólo se presenta en piel muy gruesa, como la de palmas de manos y plantas de pies [Arenas, 2005; Falabella *et al*, 2002].

**Córneo.** Las células que proceden de la capa granulosa pierden su núcleo y prácticamente todo el contenido celular, excepto los filamentos de queratina y la matriz de filagrina<sup>6</sup>. Por lo que éste estrato se conforma por células muertas aplanadas llamadas corneocitos [Arenas, 2005; Falabella *et al*, 2002].

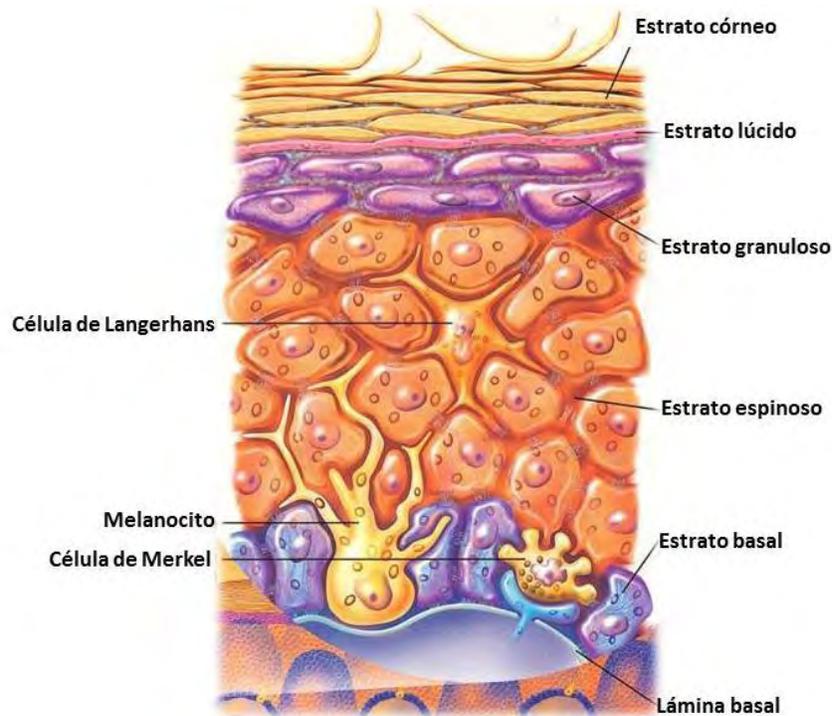
---

<sup>3</sup> Las células de Langerhans representan del 3 al 4% de las células de la epidermis, son células dendríticas presentes en las capas suprabasales de la epidermis, aunque también pueden estar presentes en la dermis. Desempeñan un papel fundamental como células presentadoras de antígeno en las respuestas inmunológicas cutáneas y pertenecen al sistema de macrófagos-mononucleares; contienen gránulos o cuerpos raquetoides (llamadas de Langerhans o Birbeck) [Puig, 2009; Arenas, 2005; Marie-Claude, 2005].

<sup>4</sup> Las células de Merkel se encuentran en la capa basal de la epidermis donde se asocian con terminaciones nerviosas intraepidérmicas y en la dermis se encuentran asociadas a las células de Schwann correspondientes a fibras mielínicas implicadas en la percepción táctil [Puig, 2009; Arenas, 2005; Marie-Claude, 2005].

<sup>5</sup> Los gránulos laminares también llamados cuerpos de Odland, miden alrededor de 300 nm de diámetro, están formados por lípidos y lipasas que son segregados a los espacios intersticiales, lo que proporciona las propiedades de barrera de la capa córnea, la síntesis y el almacenamiento de colesterol, además de la adhesión y descamación de las células cornificadas [Zappi y Zappi, 2007; Chu *et al*, 2005].

<sup>6</sup> La filagrina es una glicoproteína que actúa como matriz y promueve la agregación de los filamentos de queratina. Durante la transición de una célula granular a una cornificada ocurre la transformación de pro-filagrina a filagrina, esta va a ser depositada a lo largo de los tonofilamentos y en los intersticios entre ellos, formando complejos irregulares llamados gránulos de queratohialina [Zappi y Zappi, 2007; Falabella *et al*, 2002].



**Figura 2.** Estratos y células de la epidermis.

**Fuente:** Modificado de [http://www.a3bs.com/The-Skin-VR1283L,p\\_1207\\_16\\_1092\\_2635.html](http://www.a3bs.com/The-Skin-VR1283L,p_1207_16_1092_2635.html).

### 3.1.3.2. Unión dermoepidérmica

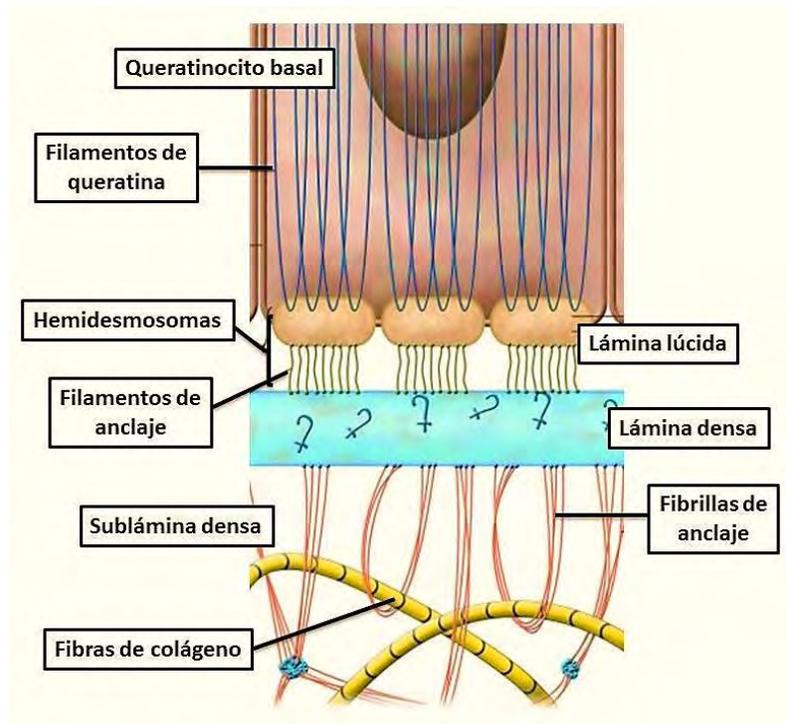
La unión dermoepidérmica (UDE) o lámina basal, con 100 nm de espesor, constituye la región anatómica que forma la interfase entre la epidermis y la dermis; su función más importante es mantenerlas juntas además de ofrecer resistencia contra fuerzas de rozamiento externas, sirve como sostén de la epidermis, determina la polaridad del crecimiento, dirige la organización del citoesqueleto en las células basales, proporciona elementos de señalización y actúa como barrera semipermeable [Chu *et al*, 2005]. La UDE está constituida de tres capas (Figura 3):

**Complejo de filamentos de anclaje-hemidesmosomas.** Une los queratinocitos basales de la epidermis a la lámina densa, formando una placa de anclaje, sobre la que se apoyan los tonofilamentos de queratina [Puig, 2009; Chu *et al*, 2005; Rodríguez-Peralto y Alonso, 2004].

**Membrana basal.** Está conformada por las láminas lúcida y densa. En la primera se encuentran muchas glucoproteínas no colágenas como lamininas, entactina/nidógeno

y fibronectina; mientras que la lámina densa está constituida principalmente por colágeno tipo IV, el cual forma una red que brinda sostén y flexibilidad a este estrato, además se une a la dermis mediante fibras de anclaje de colágeno tipo VII. La laminina también se encuentra en la lámina densa [Puig, 2009; Chu *et al*, 2005; Rodríguez-Peralto y Alonso, 2004].

**Fibrillas de anclaje.** Son estructuras anchas, alargadas, flexibles, fibrilares y con bandas que se originan en la lámina densa y se extienden hacia el interior de la dermis, están formados por laminina 5 y 6 además de colágeno tipo VII [Puig, 2009; Chu *et al*, 2005; Falabella *et al*, 2002].



**Figura 3.** Componentes de la unión dermoepidérmica.

**Fuente:** Modificada de <http://www.jci.org/articles/view/28547/figure/1>.

### 3.1.3.3. Dermis

La dermis es la capa más gruesa de la piel. Está compuesta de tejido conectivo, vasos, nervios y anexos cutáneos. En este estrato se encuentran tres clases de fibras proteínicas: colágenas, reticulares y elásticas, una sustancia fundamental compuesta principalmente por un gel de glucosaminoglucanos, ácido hialurónico, condroitín-sulfato y dermatán-sulfato; además de varios tipos de células:



fibroblastos<sup>7</sup>, histiocitos<sup>8</sup>, mastocitos<sup>9</sup>, entre otros. La dermis brinda plegabilidad, elasticidad y resistencia a la tracción; protege al cuerpo de las agresiones mecánicas, fija el agua, participa en la regulación térmica, así mismo tiene receptores de estímulos sensitivos. La vasculatura está dada por un plexo superficial y uno profundo, comunicándose entre sí, también hay una red paralela de vasos linfáticos [Puig, 2009; Arenas, 2005; Chu *et al.*, 2005]. La dermis está organizada en dos regiones:

La **dermis papilar** se caracteriza por la presencia de delgadas fibrillas de colágeno tipo I y de tipo III, además de una delicada red de fibras elásticas (oxitalan y elaunina), abundantes capilares, sustancia fundamental y fibroblastos; no contiene colágeno maduro [Chu *et al.*, 2005; Rodríguez-Peralto y Alonso, 2004; Falabella *et al.*, 2002].

La **dermis reticular** está compuesta sobre todo por fibrillas de colágeno tipo I de gran diámetro organizadas en grandes haces de fibras entrelazadas. Alrededor de estos haces de fibras colágenas hay fibras elásticas ramificadas (elastina), maduras y en forma de banda que proveen una mayor elasticidad y resistencia al tejido dérmico [Chu *et al.*, 2005; Rodríguez-Peralto y Alonso, 2004; Falabella *et al.*, 2002].

### 3.1.3.4. Hipodermis

La hipodermis o tejido celular subcutáneo está formada por lóbulos de adipocitos, que son células redondeadas con núcleo periférico y citoplasma lleno de lípidos, dichos lóbulos están separados por tabiques de tejido conectivo [Arenas, 2005]. El tejido de la hipodermis aísla al cuerpo, sirve como suplemento de reserva energética, protección de la piel, permite su movilidad sobre las estructuras subyacentes e incluso como acolchado [Chu, 2009].

---

<sup>7</sup> Los fibroblastos son responsables de la síntesis de los elementos fibrosos de la dermis, como colágeno, elastina y sustancia fundamental [Rodríguez-Peralto y Alonso, 2004].

<sup>8</sup> Los histiocitos se originan en la médula ósea, circulan en la sangre y entran a los tejidos como monocitos; tienen capacidad fagocitaria y participan en funciones inmunitarias, presentando antígenos a los linfocitos [Rodríguez-Peralto y Alonso, 2004; Lever, 1979].

<sup>9</sup> Los mastocitos o células cebadas participan en los fenómenos inflamatorios mediante la liberación de diversos mediadores químicos que atraen a otros elementos celulares como eosinófilos y neutrófilos, intervienen en la defensa contra los parásitos, promueven la fagocitosis, la permeabilidad vascular, la reparación tisular y la angiogénesis [Rodríguez-Peralto y Alonso, 2004; Falabella *et al.*, 2002].



### 3.1.4. Componentes químicos de la piel

La piel se compone de agua (70%); minerales como sodio, potasio, calcio, magnesio y cloro; carbohidratos como glucosa; lípidos, en especial colesterol, además de proteínas como colágena y queratina [Arenas, 2005].

### 3.1.5. Funciones de la piel

La piel es un órgano complejo que protege al huésped de su ambiente y al mismo tiempo permite la interacción del organismo con el medio que lo rodea. Entre las funciones que tiene la piel se encuentran la detección de estímulos sensoriales, termorregulación, producción de vitamina D, protección contra microorganismos patógenos, asimismo proporciona una barrera protectora contra las agresiones del entorno como traumas, agentes tóxicos, radiaciones electromagnéticas y pérdida de fluidos. Estas diferentes funciones de la piel están mediadas por uno o varios de sus tres principales tejidos: la epidermis, la dermis y la hipodermis (Cuadro 3) [Chu, 2009; Puig, 2009; Rodríguez-Peralto y Alonso, 2004; Tripp *et al*, 2003; Rodón *et al*. 2001].

**Cuadro 3.** Funciones de la piel [Chu, 2009].

<b>Función</b>	<b>Capa de tejido</b>
Barrera de permeabilidad	Epidermis
Protección contra patógenos	Epidermis, dermis
Termorregulación	Epidermis, dermis, hipodermis
Sensación	Epidermis, dermis, hipodermis
Reparación/regeneración de heridas	Epidermis, dermis
Protección contra radiación ultravioleta	Epidermis

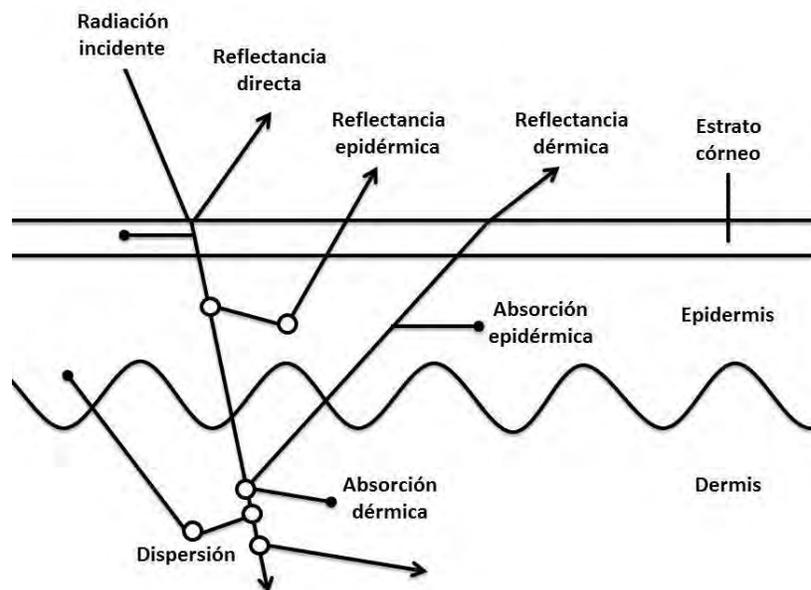
### 3.1.6. Protección de la piel contra la radiación ultravioleta

La piel es el órgano con mayor exposición a una amplia variedad de factores físicos, químicos y biológicos, por lo tanto representa la primera barrera de defensa contra las agresiones del ambiente. En este sentido la radiación ultravioleta (RUV) presente en la luz solar es considerada por sus efectos nocivos como el estímulo físico de mayor riesgo para el desarrollo de una amplia variedad de efectos deletéreos, incluyendo quemaduras solares, inmunosupresión, envejecimiento prematuro e incluso cáncer de piel. Sin embargo no todas las reacciones inducidas por RUV son dañinas ya que psicológicamente brinda una sensación de bienestar, permite la regulación del ciclo circadiano, además de la síntesis de pre-vitamina D-3 a



partir del 7-dehidrocolesterol [González-Maglio *et al*, 2010; Maverakis *et al*, 2009; Katiyar, 2008; Afaq *et al*, 2007; Lui y Anderson, 2007; Yamada *et al*, 2006; Tae-Heung *et al*, 2003; Ruiz *et al*, 2001].

Para hacer frente a los efectos adversos de la RUV las células de la piel disponen de diferentes mecanismos de protección. Cuando la radiación incide sobre la piel, ésta sufre una serie de cambios antes de producir algún efecto biológico: una parte es reflejada por el estrato córneo u otras capas de la epidermis y la porción restante por la dermis (Figura 4). Hay un aumento en la actividad mitótica principalmente en epidermis, este incremento en la proliferación y la diferenciación celular amplían su espesor, sobre todo del estrato córneo, resultando en una dispersión de la trayectoria de la luz. Por consiguiente, existe una disminución de la transmisión de la radiación UV a las células vulnerables de la capa basal. Sólo una proporción que penetra es captada por diversas moléculas denominadas cromóforos capaces de absorber la energía lumínica [Maverakis *et al*, 2009; Verschooten *et al*, 2006; Kullavanijaya y Lim, 2005; Magaña, 2003].



**Figura 4.** Interacción de la RUV y radiación visible con la piel.  
**Fuente:** Modificado de *et al*, 2009.

Hay una variedad de cromóforos dentro de la piel que pueden absorber esta energía y ser alterados químicamente por ella. La melanina es un pigmento que absorbe RUV y es capaz de disiparla en forma de calor inofensivo, ésta sustancia es sintetizada y liberada por los melanocitos a través de los melanosomas, los cuales se



transfieren a los queratinocitos adyacentes proporcionándoles una mayor protección ya que forman una cubierta capaz de absorber la RUV alrededor del núcleo, este proceso se presenta enseguida de la exposición a la radiación. Otros cromóforos celulares que absorben RUV son las bases púricas y pirimídicas del ADN, las queratinas, el ácido urocánico y algunas proteínas, en especial las que presentan aminoácidos aromáticos como triptófano, fenilalanina y tirosina [Mason *et al*, 2010; Maverakis *et al*, 2009; Verschooten *et al*, 2006; Kullavanijaya y Lim, 2005; Magaña, 2003].

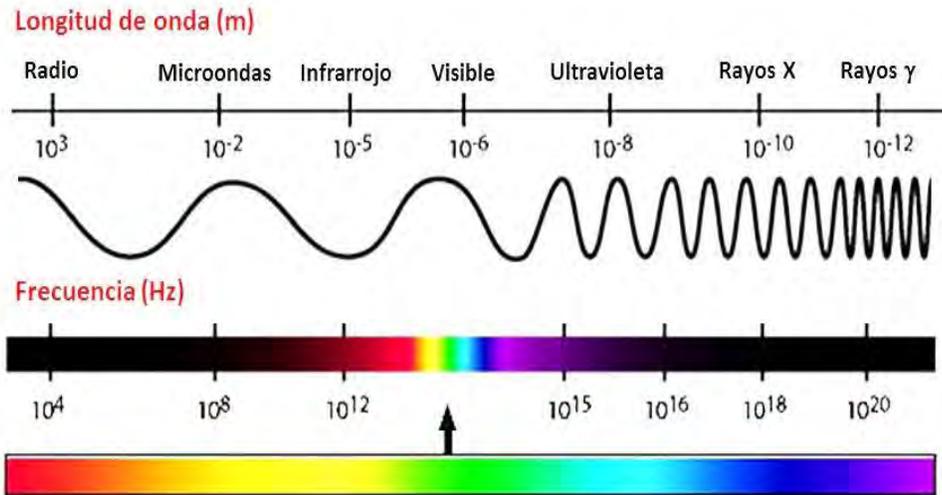
### 3.2. Radiación solar y espectro electromagnético

El Sol con un diámetro de 1,392,000 Km es una esfera consistente en gases calientes, predominantemente contiene 72% de hidrógeno y 27% de helio, que produce una enorme cantidad de energía de radiación debido a las continuas reacciones termonucleares que en su interior se llevan a cabo con temperaturas de varios millones de grados [Quiñones, 2009; De la Rosa, 2005; Serra-Baldrich y Tribó, 1992].

La reacción básica en el interior del Sol es la fusión nuclear donde cuatro protones de hidrógeno se combinan para formar un átomo de helio; como consecuencia la masa perdida es alrededor de 4 megatoneladas por segundo aproximadamente, lo cual se convierte en energía de radiación que se expande en todas direcciones y tan sólo una pequeña parte llega a la tierra [Quiñones, 2009; De la Rosa, 2005; Serra-Baldrich y Tribó, 1992].

Todas estas radiaciones se caracterizan por su frecuencia y longitud de onda. Con base a estas dos propiedades suelen clasificarse en diferentes grupos como: ondas de radio, ondas infrarrojas, luz visible, radiación ultravioleta (RUV), rayos X y rayos gamma; al conjunto de todas ellas se le denomina espectro electromagnético (Figura 5) [Reagan-Shaw *et al*, 2008; Duro *et al*, 2003].

Gran parte de estas radiaciones son desviadas por el magnetismo terrestre, reflejadas al espacio o absorbidas selectivamente por diversos gases de la atmosfera ( $N_2$ ,  $O_2$ ,  $O_3$ ,  $CO_2$  vapor de agua, etc.). De todo el espectro solar, sólo la luz visible, los infrarrojos, las ondas de radio y una parte de la radiación ultravioleta alcanzan la superficie terrestre, en las siguientes proporciones: 50, 40 y 10% respectivamente, además de las ondas de radio [De la Rosa, 2005; Duro *et al*, 2003].



**Figura 5.** Espectro electromagnético.

**Fuente:** modificado de <http://effieboo.wordpress.com/2010/09/22/what-i-learned-in-chemistry/electromagnetic-spectrum/>.

### 3.2.1. La radiación ultravioleta

Del espectro electromagnético que emite el Sol la RUV abarca de los 200 a los 400 nm, sin embargo de acuerdo al segundo Congreso Internacional sobre Luz realizado en Agosto de 1932 la RUV fue dividida de la siguiente manera:

**Cuadro 4.** Clasificación de la radiación ultravioleta de acuerdo al segundo congreso de la luz, agosto de 1932.

Tipo de radiación	Longitud de onda
UVA	400-315 nm
UVB	315-280 nm
UVC	280-100 nm

La RUV es uno de los carcinógenos físicos más importantes y potencialmente peligrosos presente en el ambiente por ser un componente muy agresivo con las células de los organismos [Reagan-Shaw *et al*, 2008; Afaq y Mukhtar, 2006; Verschooten *et al*, 2006]. Grandes cantidades de UVB y UVC son reflejadas o absorbidas por el  $O_3$ ,  $O_2$  y vapor de agua presentes en la atmosfera, por lo tanto la RUV, que llega a la tierra, se compone de un 5-10% de UVB que es altamente energético y 90-95% de UVA con menor energía [Maverakis *et al*, 2009; Verschooten *et al*, 2006].



### 3.2.2. Factores que influyen en los niveles de radiación UV

La cantidad de rayos UVB y UVA que llegan a la superficie de la tierra se ve afectada por diversos factores como [WHO, 2011; Kullavanijaya y Lim, 2005; Jeanmougin, 2004; Cancino, 1998]:

**Elevación del sol.** Que depende del ciclo anual y del periodo de traslación, donde la tierra puede estar más o menos alejada de él y por lo tanto la intensidad de las radiaciones ultravioleta está relacionada con estos fenómenos.

**Época del año.** En primavera y verano la radiación solar es mayor, debido a la inclinación del eje de rotación de la tierra.

**Hora del día.** La máxima intensidad de radiación se presenta de las 10:00 a las 14:00 horas, debido a que los rayos solares son mayores conforme el astro se acerca al cenit.

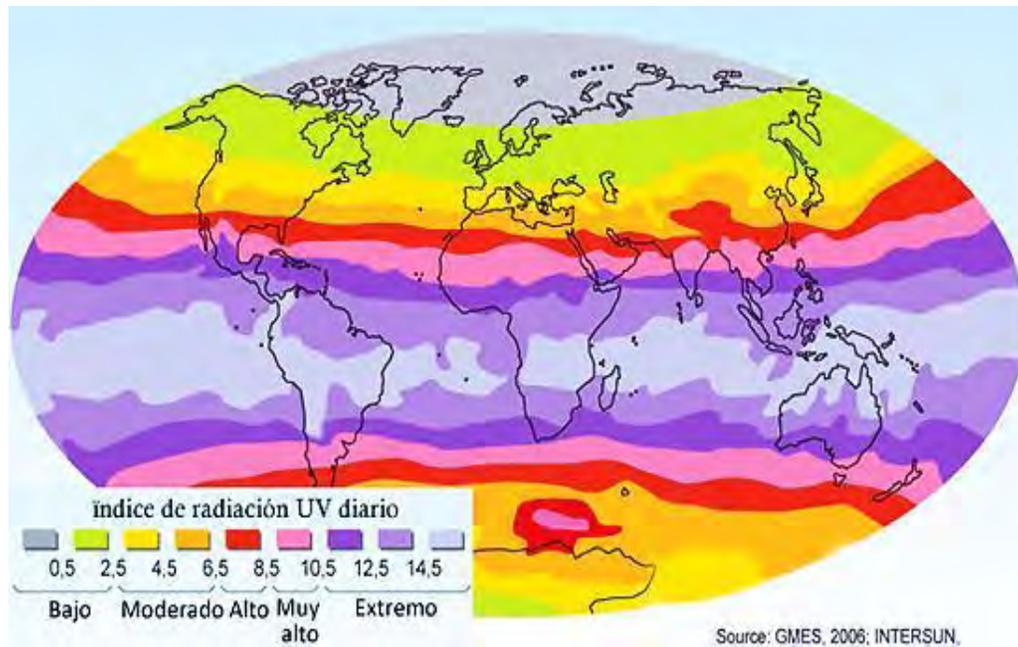
**Latitud.** Cuanto más cerca se está del ecuador, más intensas son las radiaciones ultravioleta (Figura 6).

**Altitud.** La cual reduce el recorrido de las radiaciones, por lo que la intensidad de la RUV aumenta 5% por cada 1000 metros de altitud.

**Nubosidad.** Las radiaciones ultravioleta son más intensas cuando el cielo está despejado; un cielo cubierto de nubes poco densas deja pasar dos terceras partes de la RUV, mientras que un cielo cubierto por grandes nubes sólo deja pasar un tercio.

**Capa de ozono.** Este gas absorbe una parte de las radiaciones ultravioleta del sol. A medida que la capa de ozono se adelgaza, aumenta la cantidad de RUV que llegan a la superficie terrestre.

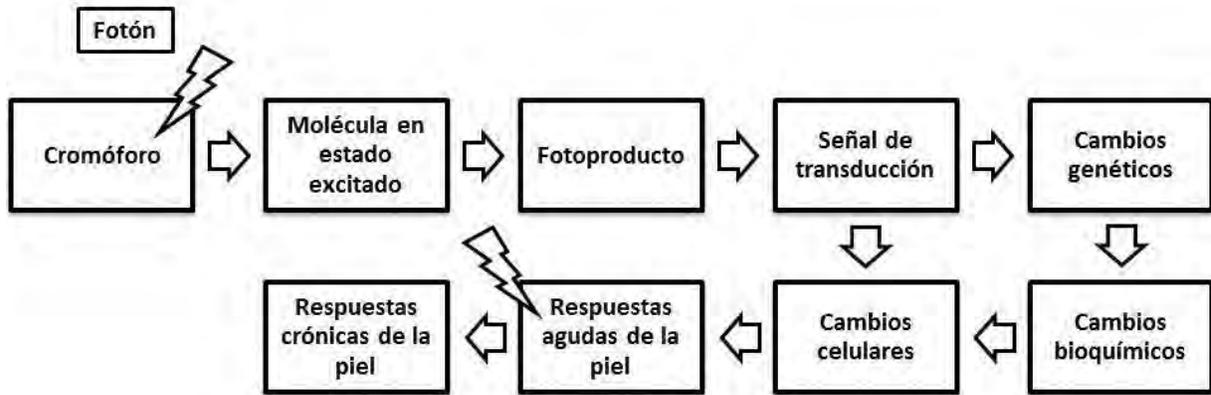
**Reflexión por el suelo.** Muchas superficies reflejan los rayos solares y aumentan la exposición general a las radiaciones ultravioleta (el césped, la tierra, el asfalto y el agua reflejan menos de 10%; la nieve recién caída, hasta 80%; la arena seca de las playas, 15%; y la espuma del mar, 25%).



**Figura 6.** Índice de irradiación UV a nivel mundial.  
**Fuente:** [http://cienciaescolar.net/proyectos/wp-content/uploads/2010/01/indice\\_uv.jpg](http://cienciaescolar.net/proyectos/wp-content/uploads/2010/01/indice_uv.jpg).

### 3.3. Efectos de la radiación ultravioleta en la piel

El efecto de la RUV en las células humanas se debe a complejas interacciones celulares, cuando una molécula cromófora absorbe la radiación se excita, disipa la energía absorbida y vuelve a su estado basal o de reposo. Durante este evento la energía puede ocasionar cambios químicos que pueden dar paso a un fotoproducto el cual puede participar en procesos bioquímicos complejos como reparaciones enzimáticas e inducción de la transcripción de ciertos genes, que dan como consecuencia cambios celulares entre los que se encuentran la proliferación y la mutagénesis que se manifiestan clínicamente como eritema, edema, quemaduras solares, hiperpigmentación, muerte celular, pápulas, hiperplasia epidérmica, prurito, y a largo plazo, la formación de lesiones precancerosas como: queratosis actínica, formación de tumores, entre otras (Figura 7) [Scheinfeld y Deleo, 2006; Hasan *et al*, 2005; Kullavanijaya y Lim, 2005; Magaña, 2003].



**Figura 7.** Pasos generales en la respuesta de la piel a la RUV.  
**Fuente:** Modificado de Kochevar y Taylor, 2003.

La RUV causa dos tipos de daños en las células vivas: los directos que son provocados por la incidencia de la RUV sobre macromoléculas como proteínas, ADN y ARN que absorben eficientemente la energía del espectro UV, resultando en su degradación y/o transformación, con lo cual su función biológica se deteriora o se pierde y los daños indirectos que son los que se producen cuando la RUV es absorbida por compuestos que producen especies reactivas de oxígeno (ERO) como peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), anión superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), radical hidroxilo ( $\bullet OH$ ), y oxígeno singulete ( $^1O_2$ ). Las ERO son altamente reactivas y pueden oxidar los componentes celulares; si bien pueden ser el resultado de la actividad metabólica normal de todo ser vivo, su producción es fuertemente acelerada por exposición a la RUV [Libkind *et al*, 2004; Vincent y Nale, 2000].

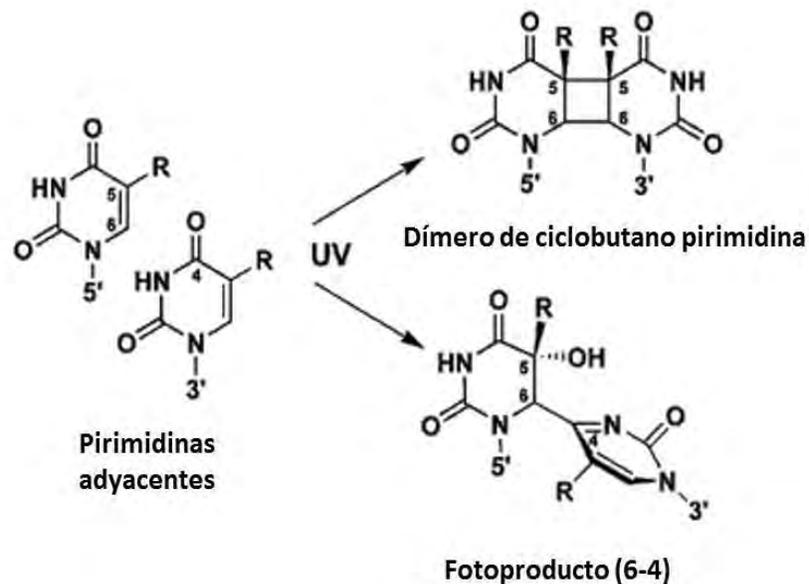
Las longitudes de onda UVC son altamente mutagénicas pero no alcanzan la superficie de la tierra, y por lo tanto su papel en la patogénesis humana es mínimo. Sin embargo la RUV-B y en menor medida, la radiación UV-A son los responsables de diversos trastornos de la piel como cáncer y fotoenvejecimiento [Katiyar, 2008; Afaq y Mukhtar, 2006; Scheinfeld y Deleo, 2006]. De hecho, se ha demostrado que la RUV-A así como la RUV-B penetran en las capas epidérmica y dérmica, donde inducen la degradación de componentes celulares, como lípidos, proteínas y el ADN, asimismo las fibras de colágeno y elastina [Yamada *et al*, 2006].

La RUV-B es considerada un carcinógeno completo ya que puede actuar como un iniciador, promotor tumoral y co-carcinógeno. Se ha observado que esta radiación induce una variedad de efectos biológicos, incluyendo inflamación, quemadura solar, hiperpigmentación, daños oculares, fotoenvejecimiento, inmunosupresión y además son imprescindibles para el desarrollo de la carcinogénesis induciendo daños en el



ADN que producen modificaciones en la expresión de los oncogenes y de los genes supresores de tumores. Los efectos de la RUV-B se limitan principalmente a la epidermis, y tiene efectos directos sobre las biomoléculas. Cuando esta radiación incide sobre la piel, es absorbida por las bases pirimidínicas del ADN induciendo la formación de dímeros de ciclobutano pirimidina y pirimidina (6-4) pirimidona los cuales generan mutaciones (figura 8). Además se produce la fotoisomerización del ácido *trans*-urocánico a la forma *cis* provocando inmunosupresión (Figura 9) aunado a la generación de ERO [Peres *et al*, 2011; González-Maglio *et al*, 2010; Katiyar, 2008; Afaq y Mukhtar, 2006; Gu *et al*, 2006; Scheinfeld y Deleo, 2006; Bair *et al*, 2002; Tedesco *et al*, 1997].

La RUV-A penetra a una mayor profundidad en la piel, alcanzando la capa reticular de la dermis [González-Maglio *et al*, 2010]. Ésta radiación induce la generación de  $^1\text{O}_2$  y  $\bullet\text{OH}$ , es carcinogénica, aunque no tan eficaz; sin embargo su importancia radica en que constituye el 90-95% de la radiación que alcanza la piel humana. Afecta a los cromóforos epidérmicos y dérmicos e induce inestabilidad genómica persistente en los queratinocitos humanos a través de un mecanismo de estrés oxidativo, donde el principal fotoproducto inducido por las ERO en el ADN es la 8-hidroxi-guanosina, que parece ser altamente mutagénica [Katiyar, 2008; Scheinfeld y Deleo, 2006].



**Figura 8.** Estructura de algunos daños en el ADN inducidas por RUV.  
**Fuente:** <http://www.photobiology.info/Jagger.html>.



**Figura 9.** Transformación del ácido trans-urocánico en ácido cis-urocánico por efecto de la RUV.

**Fuente:** <http://www.rsc.org/publishing/journals/pp/article.asp>.

### 3.3.1 Daños agudos y crónicos

Las manifestaciones cutáneas asociadas a la exposición solar se pueden clasificar en función del grado de exposición como: agudos y crónicos. Los procesos inflamatorios y degenerativos tras la irradiación aguda y crónica a la luz UV son conocidos por ser mediados por la sobreproducción de ERO, que causan daño oxidativo y deterioro de los sistemas antioxidantes [Campos *et al*, 2006].

La exposición aguda a la RUV induce daño celular e inicia las respuestas de reparación en queratinocitos. Se produce eritema, edema y pigmentación de la piel, seguido del bronceado tardío, el engrosamiento de la epidermis y la dermis, así como la síntesis de vitamina D; la regeneración y reparación de los daños en la epidermis se produce en un plazo aproximado de una semana. Por otra parte la exposición crónica tiene graves efectos adversos sobre la estructura y función de la piel. Cuando la exposición a la radiación UV es crónica causa daños repetidos en las células epidérmicas, lo que eventualmente puede dar lugar a fotoenvejecimiento, inmunosupresión, así como al desarrollo de neoplasias epidérmicas [Kullavanijaya y Lim, 2005; Vayalil *et al*, 2004; Tripp *et al*, 2003].

### 3.4. Neoplasia

El término neoplasia describe un estado de división celular autónoma, asimismo a la masa anormal de células resultante también se conoce con el mismo nombre. Además de la proliferación celular anormal, se caracteriza también por la maduración atípica de las células (Figura 10). Desde el punto de vista clínico las neoplasias se dividen en dos grupos principales: neoplasias benignas y neoplasias malignas [Stevens *et al*, 2003].

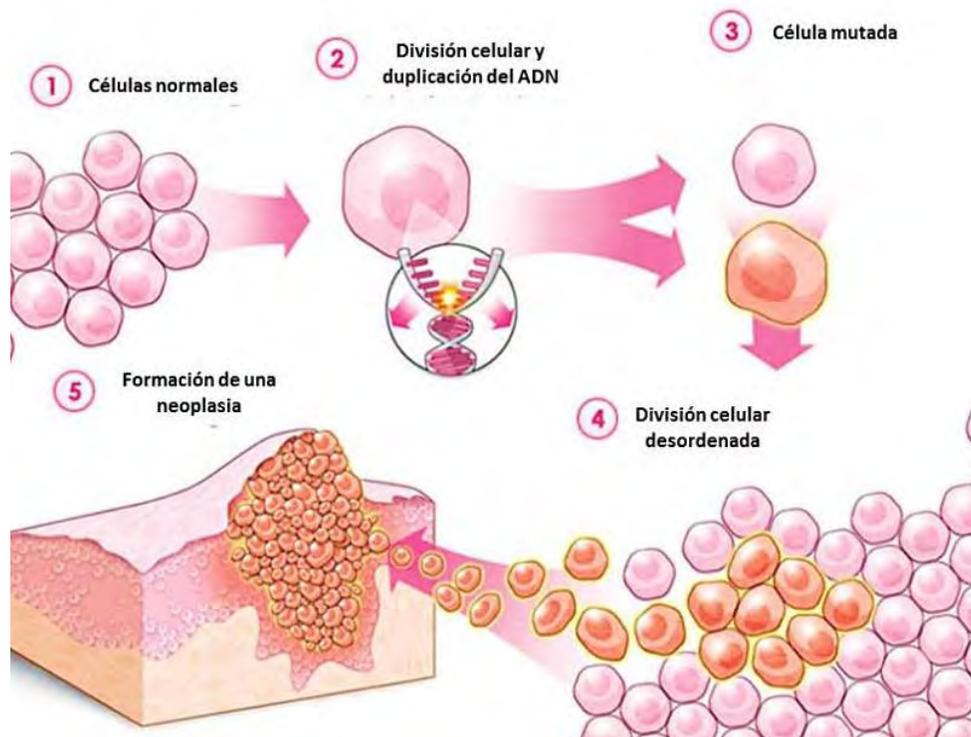


### 3.4.1. Neoplasias benignas

Las células que componen las neoplasias o tumores benignos se asemejan a las células normales y pueden funcionar como ellas; se identifican porque crecen con lentitud y permanecen localizadas en el lugar de origen, los márgenes del tumor están bien definidos y el crecimiento celular es exclusivamente local. Por lo general una cápsula fibrosa delimita la extensión de un tumor benigno [Lodish *et al*, 2005; Stevens *et al*, 2003].

### 3.4.2. Neoplasias malignas

Las neoplasias malignas crecen y se dividen con rapidez, además se pueden diseminar ampliamente; los márgenes de la neoplasia están poco definidos y las células tumorales se extienden en los tejidos vecinos y los destruyen o se pueden diseminar a lugares distantes (proceso denominado metástasis). A este tipo de neoplasia también se le denomina tumor maligno [Lodish *et al*, 2005; Stevens *et al*, 2003].



**Figura 10.** Formación de una neoplasia.

**Fuente:** Modificado de <http://www.ache.com.br/Corp/oncologia-canceraz.aspx>.



### 3.5. Cáncer

La organización mundial de la salud refiere el cáncer como un proceso de crecimiento y diseminación incontrolados de células que puede aparecer prácticamente en cualquier lugar del cuerpo, además el tumor suele invadir el tejido circundante y puede provocar metástasis<sup>10</sup> [WHO, 2011].

La formación de tumores es un proceso de varias etapas que deriva de una serie de alteraciones genéticas adquiridas y, en algunos casos, hereditarias las cuales crean desequilibrios en procesos celulares cruciales como la regulación del ciclo celular, proliferación celular, muerte y diferenciación de las células. Estas alteraciones son debidas a fallas en la señalización, síntesis de proteínas, errores de codificación o pérdida de genes y como consecuencia estos desequilibrios permiten la expansión clonal de las células y, en último término, la formación de tumores [Rigell *et al*, 2006; Gruijl, 1999].

#### 3.5.1. Etapas de la carcinogénesis

El desarrollo del cáncer de piel inducido por la RUV, también denominado fotocarcinogénesis, es un proceso el cual implica tres etapas denominadas iniciación, promoción y progresión (Figura 11). Cada una está mediada por alteraciones a nivel celular, bioquímico y molecular como: el daño y la estimulación de la síntesis de ADN, la proliferación celular, inflamación, hiperplasia epidérmica, la inmunosupresión, la desregulación del ciclo celular, el desequilibrio en los sistemas antioxidantes, el deterioro de las vías de transducción de señales, la inducción de la ornitina descarboxilasa (ODC) y la ciclooxigenasa-2 (COX-2) [Adhami *et al*, 2008; Ahmad *et al*, 2001].

**Iniciación.** Está asociada con los efectos genotóxicos de la luz UV en las células normales; es el primer paso en el proceso de carcinogénesis y es irreversible. En esta etapa se producen alteraciones genéticas que conducen a la modificación del ADN y la fijación de la mutación [Katiyar, 2008; Afaq *et al*, 2005].

**Promoción.** Es un proceso que genera la expansión clonal de las células iniciadas dando lugar a lesiones premalignas y posteriormente a lesiones malignas; fundamentalmente por alteraciones en las vías de transducción de señales. Este proceso se considera reversible y el lapso de tiempo que dura esta fase es indefinido,

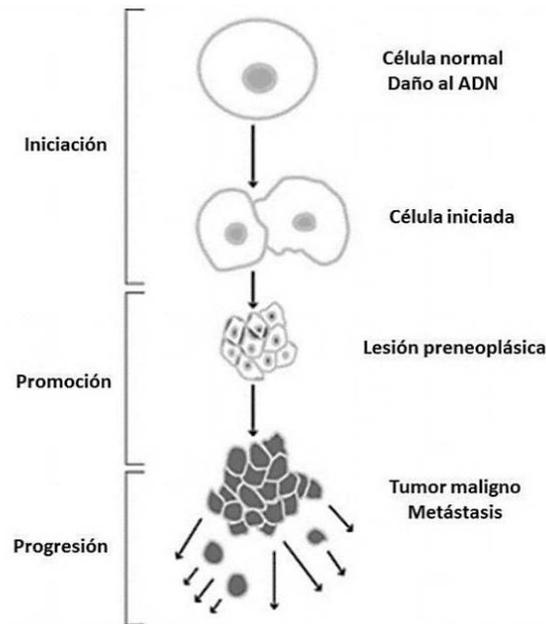
---

<sup>10</sup> Migración de células de un tumor primario a nuevos sitios, donde producen tumores secundarios que frecuentemente tienen un alto impacto en la salud [Lodish *et al*, 2005].



ya que puede ir desde unos meses hasta varios años [Katiyar, 2008; Afaq *et al*, 2005].

**Progresión.** Esta etapa implica la conversión de las lesiones premalignas y malignas en un tumor maligno que puede ser potencialmente invasivo y metastásico [Katiyar, 2008; Afaq *et al*, 2005].



**Figura 11.** Etapas de la carcinogénesis.

**Fuente:** Modificado de <http://probioticsnow.com/node/1726>.

Durante la iniciación, la RUV-B pueden causar alteraciones cromosómicas y mutaciones a través de lesiones directas al ADN y/o producción de ERO. La promoción tumoral se produce a través de la alteración en la expresión de genes, el daño de la membrana celular, la apoptosis y un sistema inmunológico comprometido. La progresión del tumor parece implicar alteraciones genéticas adicionales incluyendo cambios cromosómicos, además del rompimiento de la membrana basal y angiogénesis [Bair *et al*, 2002].

### 3.5.2. Cáncer de piel

El término de cáncer cutáneo incluye tumores de diversa estirpe celular y diferente agresividad y pronóstico como: carcinoma basocelular, carcinoma espinocelular o epidermoide, melanoma maligno, adenocarcinomas de glándulas



sebáceas o sudoríparas, sarcomas y manifestaciones cutáneas de linfomas malignos (Cuadro 5) [Amado, 2001].

**Cuadro 5.** Origen y denominación de los tumores malignos de la piel [Amado, 2001].

<b>Tumores malignos de la piel</b>	
Epitelio	Carcinomas
Melanocito	Melanoma maligno
Tejido Conjuntivo	Sarcomas
Tejido Linfoide	Linfomas
Anexos	Adenocarcinoma

### 3.5.2.1. Etiología

Los factores etiológicos implicados en el desarrollo del cáncer de piel son varios, los cuales están relacionados entre sí. Participan factores endógenos como el tipo de piel, la genética y las lesiones preexistentes, e igualmente los factores exógenos donde destacan la latitud, el agotamiento de la capa de ozono y la exposición a la RUV. La interacción de estos factores es compleja y por lo general actúan de forma sinérgica en la carcinogénesis, afectando la función y replicación de ADN, la membrana celular, la función inmunitaria, la actividad enzimática y en general el funcionamiento celular [Scheinfeld y Deleo, 2006].

**Luz ultravioleta.** La sobreexposición a este tipo de radiación es la causa principal de los tres tipos más comunes de cáncer, es decir, carcinoma basocelular, carcinoma epidermoide y melanoma [DHSSPS, 2004].

**Latitud.** La latitud geográfica también tiene un efecto sobre la cantidad de exposición solar, mientras más cercanos a la línea ecuatorial, mayor es el riesgo de cáncer de piel [DHSSPS, 2004].

**Adelgazamiento de la capa de ozono.** Cada vez hay más evidencia de que la capa de ozono se está agotando debido al aumento de la liberación de sustancias contaminantes incluidos los CFC's<sup>11</sup>. Se estima que un 1% reducción de la capa de ozono se traducirá en un aumento del 10% de cáncer de piel [DHSSPS, 2004].

<sup>11</sup> Los CFC's o clorofluorocarbonos son una familia de productos químicos formados por átomos de carbono, cloro y flúor; se utilizan como refrigerantes, propulsores de aerosoles, disolventes de limpieza y en la fabricación de espumas. Constituyen una de las principales causas del agotamiento de la capa de ozono [Stellman *et al*, 2001; Elmetts, 1991].



**El tipo de piel.** Los pacientes con los tipos de piel I y II tienen un mayor riesgo en el desarrollo de los tipos comunes de cáncer de piel. Por el contrario, las personas con piel oscura (tipo IV) rara vez desarrollan alguno de estos padecimientos (Cuadro 6) [DHSSPS, 2004].

**Cuadro 6.** Clasificación de los fototipos cutáneos [Young y Walker, 2009]

<b>Fototipo cutáneo</b>	<b>Susceptibilidad a la quemadura solar</b>	<b>Capacidad de bronceado</b>	<b>Riesgo de cáncer de piel</b>	<b>No. Estándar de DME requeridos para provocar eritema mínimo</b>
Tipo I	Alta	Ninguna	Alto	1-3
Tipo II	Alta	Escasa	Alto	
Tipo III	Moderada	Buena	Bajo	3-7
Tipo IV	Baja	Muy buena	Bajo	
Tipo V	Muy baja	Excelente	Muy bajo	7->12
Tipo VI	Muy baja	Excelente	Muy bajo	

**DME.** Dosis mínima eritematogénica.

**Genética.** La mayoría de los cánceres de piel se desarrollan como resultado de la alteración genética en células de la piel durante el curso de la vida del paciente. Sin embargo, hay algunos trastornos genéticos y síndromes poco frecuentes asociados con los diferentes tipos de cáncer de piel como el xeroderma pigmentoso<sup>12</sup> [DHSSPS, 2004].

**Lesiones preexistentes.** Las lesiones precancerosas de la piel asociadas a la exposición crónica al sol como la queratosis actínica<sup>13</sup>, pueden llegar a ser malignas si no se atienden adecuadamente [DHSSPS, 2004].

<sup>12</sup> El xeroderma pigmentoso es un trastorno genético autosómico recesivo que se manifiesta por hipersensibilidad a las radiaciones solares, afecta principalmente piel y ojos; se caracteriza por pigmentación, quemaduras solares exageradas, sequedad progresiva, neoplasias malignas y en ocasiones afección de otros órganos; el defecto celular se debe a la incapacidad de reparar el daño del ADN causado por la luz UV [Arenas, 2009; Sarasin, 1999].

<sup>13</sup> La queratosis actínica es una neoplasia cutánea que consiste en proliferaciones de queratinocitos epidérmicos, se caracteriza por la presencia de capas escamosas e hiperqueratósicas de aspecto costroso y superficie áspera, aparece en respuesta a una exposición prolongada a la RUV. La queratosis actínica es considerada una lesión precancerosa o premaligna dado su potencial de desarrollar un CEC [Arenas, 2009; Duncan *et al*, 2009].



### 3.5.2.2. Carcinoma basocelular (CBC)

El CBC es una neoplasia de baja malignidad derivada de células no queratinizadas que se originan en la capa basal de la epidermis, presenta un crecimiento lento (5 mm/año) y tiene un escaso riesgo de metástasis. Sin embargo, si no son tratados de manera oportuna y/o adecuada son capaces de generar grandes destrucciones locales [Carucci y Leffell, 2009; Escobedo, 2007; Amado, 2001]. La mayoría de los CBC se localizan en zonas expuestas, particularmente en la cara donde afecta casi exclusivamente la región centrofacial<sup>14</sup>, así como en el tronco; aparece en menor medida en cuello, extremidades y genitales, no afecta palmas de manos ni las plantas de los pies [Arenas, 2009].

**Histología.** Las células típicas de CBC tienen forma redondeada u oval, a veces poliédrica y alargada. Se disponen de manera irregular, su núcleo es basófilo y pueden llegar a tener grandes dimensiones, encontrándose rodeados, a manera de anillo, por un citoplasma de pequeño tamaño. Rodeando a estas células centrales se disponen las células periféricas o en empalizada de morfología cilíndrica, largas y estrechas, con escaso citoplasma y núcleo de tamaño considerable y fuertemente basófilo. Con frecuencia posee dos o tres nucleolos y en el nucleoplasma, finamente granuloso, se observan cúmulos cromatínicos en irregular disposición. Entre las células no se evidencian puentes intercelulares y, a veces, se identifican con dificultad estructuras filamentosas intracitoplasmáticas [Herrera, 2001].

### 3.5.2.3. Carcinoma espinocelular (CEC)

El CEC o carcinoma epidermoide es una neoplasia cutánea maligna derivada de los queratinocitos epidérmicos suprabasales; se caracteriza por lesiones vegetantes/verruosas<sup>15</sup> o ulceradas<sup>16</sup> que predominan en cabeza y extremidades, de crecimiento rápido, y que pueden establecer metástasis en ganglios regionales y otros órganos [Arenas, 2009]. La mayoría de los carcinomas espinocelulares se desarrollan a partir de lesiones precursoras como la queratosis actínica [Grossman y Leffell, 2009].

---

<sup>14</sup> La región centrofacial comprende dorso de la nariz, mejillas, párpados, región nasogeniana e infraorbitaria, frente y región nasolabial [Arenas, 2009].

<sup>15</sup> Las lesiones vegetantes o verrugosas casi siempre aparecen sobre lesiones inflamatorias crónicas, produce una neoformación que puede alcanzar grandes dimensiones (Arenas, 2009).

<sup>16</sup> La lesión de tipo ulcerada presenta una superficie irregular y base infiltrada. Tiene crecimiento rápido, destructivo y es la forma que genera metástasis (Arenas, 2009).



**Histología.** El tumor puede presentarse como células aisladas, grupos de células o una masa única, el borde inferior puede invadir ampliamente la dermis o puede estar representado por focos individuales de microinvación. El tumor invasor suele limitarse a la dermis y las células tienen un aspecto atípico con un aumento en la mitosis, figuras mitóticas aberrantes, hiperchromasia nuclear y pérdida de puentes intercelulares. La queratinización es evidente en forma de perlas córneas. Los grados histológicos del carcinoma espinocelular se establecen según el grado de diferenciación celular establecido por Broders (Cuadro 7) [Grossman y Leffell, 2009; Amado, 2001].

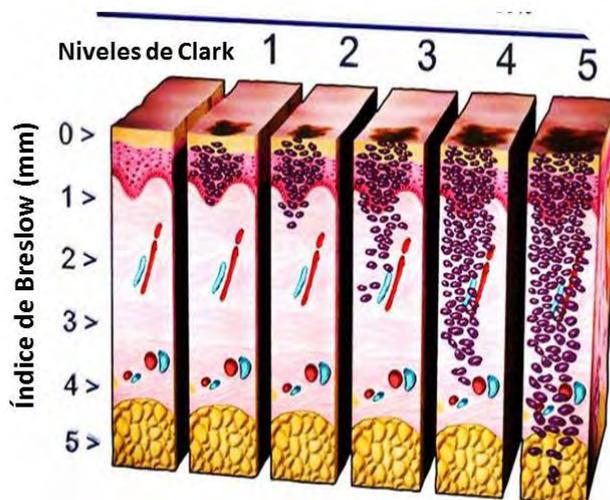
**Cuadro 7.** Sistema de estadificación de Broders para carcinoma espinocelular [Grossman y Leffell, 2009].

<b>Grado</b>	<b>% de células indiferenciadas</b>
<b>1</b>	<25
<b>2</b>	<50
<b>3</b>	<75
<b>4</b>	>75

### 3.5.2.4. Melanoma

Es una neoplasia maligna que se origina en los melanocitos que afecta la piel [90%], las mucosas [1%] y los ojos [9%], tiene un rápido avance si no se trata de manera adecuada y una gran capacidad para generar metástasis que suscita una alta mortalidad. Este tumor es la causa del 75% de muertes por cáncer de piel por lo que el diagnóstico temprano es importante [Arenas, 2009; Amado, 2001].

**Histología.** Las alteraciones consisten en una proliferación de melanocitos atípicos que por lo general inician en la unión dermoepidérmica que invade progresivamente la epidermis y la dermis y una importante cantidad de melanina y melanófagos. En la dermis puede haber diversos grados de infiltrado inflamatorio. El nivel de pleomorfismo celular y la actividad mitótica son variables, pero el dato histológico más importante para el pronóstico es el nivel de invasión, de acuerdo a las escalas de Clark y Breslow (Figura 12) [Arenas, 2009; Amado, 2001].



**Figura 12.** Niveles de Clark e índice de Breslow para melanoma maligno.  
**Fuente:** <http://www.med-ars.it>

### 3.5.2.5. Epidemiología del cáncer de piel

A pesar del notable progreso en el conocimiento de las bases biológicas y moleculares del cáncer, así como de su diagnóstico y tratamiento, este padecimiento se ha convertido en un grave problema de salud pública a nivel mundial, no sólo por sus graves manifestaciones clínicas y su alta letalidad, sino también por la gran variedad de factores de riesgo individuales y ambientales con los que se asocia. Es difícil establecer una tendencia única y una regionalización completa en el mundo; esto se debe principalmente a que tiene un comportamiento especial que varía con las condiciones de vida, los hábitos y costumbres de las diferentes poblaciones [RHNM, 2001; Meneses y Mohar, 1999].

La ocurrencia y el comportamiento de los tumores malignos varían significativamente entre los distintos grupos de edad. No obstante, cabe destacar que mientras mayor sea el individuo, mayor será su probabilidad de desarrollar cáncer. Este incremento se explica, en parte, por la acumulación de exposiciones a diversos carcinógenos físicos, químicos y biológicos, pero también por el deterioro de los sistemas hormonales e inmunológicos [Meneses y Mohar, 1999]. Según el Informe Mundial sobre el Cáncer, el de piel constituye aproximadamente el 30% de todos los nuevos casos diagnosticados en el mundo, y la RUV (en particular, su componente UVB) es una causa establecida de aproximadamente el 90% [Hassan *et al*, 2005].



### 3.5.2.6. El cáncer de piel en México

En México, como en otros países, los cambios en los estilos de vida y la urbanización de diferentes regiones han transformado los patrones de morbilidad y mortalidad de la población. La frecuencia de enfermedades infecciosas se ha reducido, mientras que enfermedades crónicas, como los padecimientos cardiovasculares y el cáncer representan ahora las primeras causas de morbilidad y mortalidad [Secretaría de salud, 1997 tomado de Meneses y Mohar, 1999].

En nuestro país existe un subregistro de casos de cáncer de piel; a pesar de ser de las neoplasias más comunes que ocurren en humanos, tienen una tasa muy baja de mortalidad y muchos son tratados sin estudio histopatológico confirmado, lo cual explica por qué no son frecuentemente incluidos en los registros epidemiológicos. En el 2001 el Registro Nacional de las Neoplasias en México (RHNM) de la Secretaría de Salud reportó que el cáncer de piel ocupa el segundo lugar en frecuencia, dominando el primer lugar en hombres (20%) y el tercer lugar en mujeres (11%) (Cuadros 8, 9) [Escobedo, 2007; Gutiérrez, 2003; RHNM, 2001].

**Cuadro 8.** Tumores malignos que se presentan con mayor frecuencia [RHNM, 2001].

<b>Principales tumores malignos</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
Cuello del útero	24.4
Piel	13.6
Mama	11
Próstata	6
Estómago	3

**Cuadro 9.** Principales neoplasias malignas en México por sexo [RHNM, 2001].

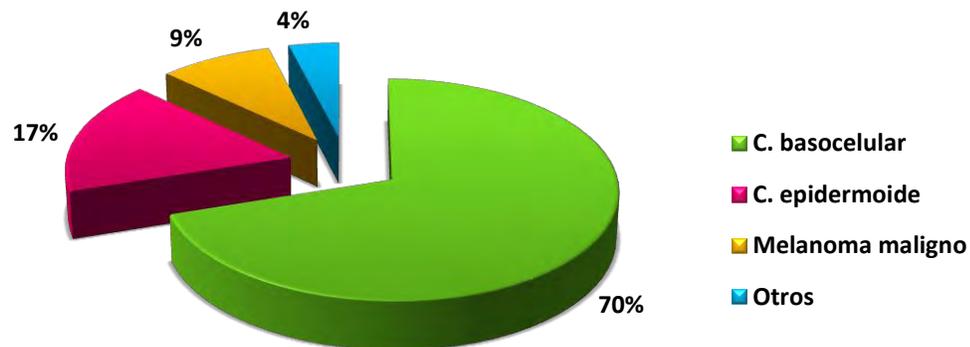
<b>Tumores malignos</b>	<b>Hombres</b>	<b>Mujeres</b>
Cuello de útero	---	36%
Piel	20%	11%
Mama	---	17%
Próstata	17%	---
Estómago	6%	---

En cuanto a las neoplasias malignas por grupos especiales de edad, el cáncer de piel es más frecuente en la edad productiva (45-64 años) en el caso de los hombres y en las mujeres se presenta principalmente en la edad post-productiva (65 años y más) (Cuadro 10) [RHNM, 2001].

**Cuadro 10.** Principales neoplasias malignas por grupos especiales de edad (Número de casos por 100,000 habitantes) [RHNH, 2001].

Hombres						Mujeres					
15-44		45-64		65 y más		15-44		45-64		65 y más	
Testículo	3.8	Piel	29.6	Próstata	71.6	Cuello del útero in situ	32.6	Mama	76.8	Piel	43.8
Piel	2.3	Próstata	20.5	Piel	47.2	Cuello del útero	12.8	Cuello del útero	57.7	Mama	77.1
Linfoma no Hodgkin difuso	1.2	Estómago	10.9	Vejiga	37.4	Cáncer de mama	11.6	Cuello del útero in situ	54.6	Cuello del útero	65.8

De acuerdo al tipo de cáncer cutáneo más frecuente, el Servicio de Dermatología del Hospital General de México reportó para el 2001 la incidencia del carcinoma basocelular en un 70%, seguido el carcinoma espinocelular con un 17%, para el melanoma maligno del 9% y finalmente el 4% referente a otros tipos de cáncer cutáneo (Gráfica 1) [Amado, 2001].



**Gráfica 1.** Distribución porcentual de los tipos más frecuentes de cáncer de piel [Amado, 2001].

### 3.6. Fotoprotección

El término general de la fotoprotección hace referencia a las estrategias utilizadas por los organismos vivos para minimizar el daño producido por la luz, en especial la RUV [Libkind *et al*, 2004]. En este sentido va a estar determinada por diferentes agentes que afectan la cantidad de transmisión de radiación sobre la piel, entre los que se encuentran los fotoprotectores naturales como la capa de ozono, las nubes, la niebla, además de compuestos asociados a actividades antropogénicas



como la emisión de material particulado y contaminantes; los agentes naturales biológicos como la epidermis y los cromóforos; los agentes físicos entre los que destacan la ropa, los sombreros, las gafas de sol, y los cristales de las ventanas; y los agentes químicos, que pueden ser naturales o sintéticos y que se caracterizan por ayudar a prevenir, retrasar o revertir los daños causados por la radiación ultravioleta (Cuadro 11) [Yagura *et al*, 2011; García-Bores y Avila, 2008; Kullavanijaya y Lim, 2005].

**Cuadro 11.** Principales agentes fotoprotectores.

<b>Naturales</b>	Capa de ozono
	Nubes
	Niebla
<b>Biológicos</b>	Epidermis
	Cromóforos
<b>Físicos</b>	Ropa
	Sombreros
	Gafas de sol
	Cristales de las ventanas
<b>Químicos</b>	Naturales
	Sintéticos

### 3.6.1. Fotoquimioprotección

Al uso o administración de compuestos de origen natural o sintético químicamente activos, que solos o en mezcla son capaces de revertir, disminuir o prevenir el desarrollo o recurrencia del cáncer se le denomina quimioprevención o quimioprotección [Reagan-Shaw *et al*, 2008; Chia-Chung *et al*, 2007; Kundoor *et al*, 2007; Issa *et al*, 2006; Sporn *et al*, 1976].

Concretamente, el término fotoquimioprotección se especifica como el uso de agentes químicos capaces de aminorar los efectos adversos de la radiación UVB en la piel absorbiéndola, y que al mismo tiempo sean antioxidantes y/o moduladores de la respuesta celular ante la RUV. En general, los agentes fotoquimioprotectores actúan en dos niveles: a) protegen de los daños causados por la radiación ultravioleta y b) modulan las diferentes respuestas celulares a los rayos UV que pueden prevenir o detener la promoción y la progresión tumoral [García-Bores y Avila, 2008; Afaq *et al*, 2007; Kullavanijaya y Lim, 2005].



### 3.6.2. Protectores solares

Los protectores solares son preparados químicos que se utilizan de manera tópica como protección contra el daño solar, atenuando la radiación UV que incide sobre la piel, y su eficacia en este aspecto está determinada por su factor de protección solar (FPS<sup>17</sup>) [Naylor y Rigel, 2006; Verschooten *et al*, 2006; Tae-Heung *et al*, 2003].

Los protectores solares tópicos se dividen en dos grupos: físicos (pantallas) y químicos (filtros). Los protectores solares físicos o pantallas son cremas que contienen partículas que difuminan y/o reflejan la RUV actuando como una barrera física. Algunos ejemplos de éste tipo de formulaciones son dióxido de titanio y óxido de zinc. Por otro lado, los filtros o protectores solares químicos también denominados orgánicos, idealmente evitan las quemaduras solares mediante la absorción de los fotones de energía lumínica en el rango de la radiación UV, que son transformados en radiación de longitudes de onda menos perjudiciales y remitidos como calor [Arenas, 2009; Glaser y Waldorf, 2006].

### 3.7. Medicina natural

La medicina tradicional es reconocida hoy como un recurso fundamental para la salud de millones de seres humanos, es un componente esencial del patrimonio tangible e intangible de las culturas del mundo, es un acervo de información, recursos y prácticas para el desarrollo y el bienestar, así como un factor de identidad de numerosos pueblos del planeta [BDMTM, 2011].

Los usos de la herbolaria nativa persisten en distintas partes de la Tierra donde los compuestos farmacológicos químico-industriales no llegan o donde el nivel socio-económico es bajo. La herbolaria nativa se convierte así en la única alternativa para curar enfermedades, mitigar dolores e infecciones, paliar el sufrimiento de afecciones crónicas o pasajeras, que merman la calidad de vida de esas sociedades. En países con economías poco consolidadas y sistemas de seguridad social no universal, el acceso a los cuidados básicos de salud queda muy restringido por la pobreza y por la falta de profesionales sanitarios que administren tratamientos y medicinas eficaces en tiempo útil [Maria, 2008].

---

<sup>17</sup> El factor de protección solar (FPS) es una medida estandarizada para evaluar la capacidad de un protector solar para filtrar la radiación UV; es la relación entre la dosis mínima eritematogénica (DME) de piel fotoprotegida respecto de la DME de la piel no protegida. La DME es la cantidad de energía necesaria para producir los primeros signos perceptibles de eritema [Lim, 2009; Glaser y Waldorf, 2006].



### 3.7.1. Productos naturales en la fotoquimioprotección

La prevención es una prioridad importante de la investigación como un medio para reducir la incidencia del cáncer, sobre todo el de piel ya que representa el 50% de todos los nuevos casos reportados cada año [Cooper *et al*, 2003].

Se sabe que cualquier organismo vivo expuesto a la radiación UV reacciona de diferentes maneras, tales como la evitación de la fuente de luz UV (fototaxis) o con la producción natural de compuestos fotoprotectores que sirven como pantalla contra la radiación UV, como la melanina sintetizada en células de la piel de animales. De este modo, la RUV que puede inducir daños en la piel de animales también pueden inducir la producción de metabolitos secundarios en plantas que les brinden un efecto fotoprotector [Alonso-Lebrero *et al*, 2003]. Por lo tanto algunas sustancias naturales extraídas de plantas han sido consideradas recientemente como un recurso potencial de protección solar debido a que tienen la capacidad de absorber la radiación ultravioleta, además de su poder antioxidante [Adhami *et al*, 2008; Wright *et al*, 2006; Avila *et al*, 2005].

Algunas sustancias naturales que han sido evaluadas por sus propiedades de protección solar son: las epigalocatequinas (EGCG) de *Camellia sinensis* (té verde), la silimarina obtenida de *Silybum marianum* (cardo mariano), la genisteína de la soya, licopeno y polifenoles como el resveratrol de varios frutos rojos, entre otros [Adhami *et al*, 2008; Wright *et al*, 2006; Avila *et al*, 2005]. Estos fitoquímicos pertenecen a varias clases de compuestos como los polifenoles, flavonoides, isoflavonoides, fitoalexinas, fenoles, antocianos y carotenoides. Los fitoquímicos pueden trabajar de distintas maneras: como cromóforos estimulando la respuesta inmune, suprimiendo la inducción de genes, mediante el bloqueo de daño oxidativo al ADN, por desintoxicación de carcinógenos y al iniciar algunas vías de señalización. Cada vez es más claro que muchos de estos fitoquímicos desempeñan múltiples funciones actuando en contra de algún proceso de fotocarcinogénesis [Adhami *et al*, 2008].

### 3.7.2. *Buddleja cordata* Kunth

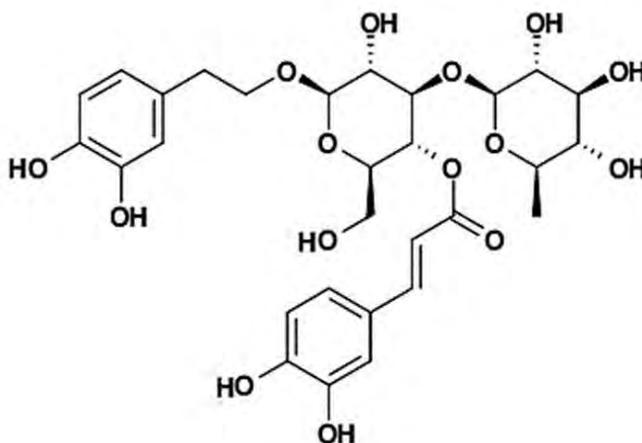
El género *Buddleja* está ampliamente distribuido en el mundo (sur de Asia, África y América Latina) y comprende alrededor de 100 especies arbóreas y arbustivas, el 50% crecen en el continente americano y en México existen aproximadamente 15 especies con algunos representantes de amplia distribución. Las flores, hojas y raíces de varias especies de *Buddleja* se utilizan en la medicina tradicional en varias partes del mundo contra heridas o enfermedades de la piel, infecciones gastrointestinales, trastornos del hígado, hemorragias nasales, calambres

musculares, reumatismo, dolores de cabeza, como diurético y en el tratamiento de los riñones; lo que evidencia la importancia de este género [Dorneles *et al*, 2009; Estrada-Zúñiga *et al*, 2009; Romero *et al*, 2003; Norman, 2000].

*Buddleja cordata* comúnmente llamada "Tepozán" es una especie de distribución amplia en México y es empleada en la medicina tradicional como analgésico, eupéptico, diurético, antiséptico, etc. Las propiedades terapéuticas de esta planta se han atribuido a diversos compuestos entre los que destacan los flavonoides como linarina y el *p*-cumárico, los derivados del ácido cinámico como los ácidos cafeico, ferúlico y sinápico, pero principalmente al verbascósido que ha sido aislado de ramas, hojas y flores (Anexo 1) [Estrada-Zúñiga *et al*, 2009; Romero *et al*, 2003].

### 3.7.3. Verbascósido

El verbascósido pertenece al grupo de fenilpropanoides glicosilados y estructuralmente está caracterizado por el ácido cafeico y el 4,5 hidroxifeniletanol unido a un  $\beta$ -[D]-glucopiranosido a través de un éster glicosídico, este compuesto se produce en muchas plantas pertenecientes a las familias: Bignoiaceae, Verbenaceae, Gesneriaceae, Labiatae, Olaceae, Orobanchaceae, Scrophulariaceae y Buddlejaceae. Actualmente se han descrito sus propiedades biológicas como antibacteriano, antiinflamatorio, antioxidante y fotoprotector (Figura 13) [Pastorelli *et al*, 2012; Vertuani *et al*, 2011; Esposito *et al*, 2010; Estrada-Zuñiga *et al*, 2009; Kostyuk *et al*, 2008; Santoro *et al*, 2008; Avila *et al*, 2002; Inagaki *et al*, 1991].



**Figura 13.** Estructura química del verbascósido.

**Fuente:** <http://wildflowerfinder.org.uk/Flowers/V/Vervain/Verbascoside.png>.



Debido a que el verbascósido absorbe la RUV con un FPS de  $24 \pm 0,7$  y presenta una actividad antioxidante mayor en contraste con otros compuestos fenólicos se considera un potencial filtro solar, por lo tanto la aplicación tópica de éste compuesto puede reducir el daño por RUV en la piel [Santos-Cruz *et al*, 2011; Rossi *et al*, 2009; Avila *et al*, 2002].



# *Justificación*

La radiación solar es esencial para el hombre, sin embargo la exposición prolongada a la RUV produce efectos adversos en la piel entre los que se encuentran inflamación, eritema, inmunosupresión, fotoenvejecimiento y cáncer de piel. Aunque actualmente se tiene conocimiento sobre estos padecimientos y por ende de la importancia de la fotoprotección, un gran número de personas continúan exponiéndose excesivamente a estas radiaciones sin protección alguna; aunado a esto, la disminución de la capa de ozono estratosférico provoca una mayor incidencia de radiación sobre la tierra, lo que puede representar un riesgo para la salud. En los próximos años se espera que el cáncer de piel incremente de manera significativa, por tal motivo existe la necesidad de estudiar compuestos químicos capaces de disminuir los efectos adversos de la RUV. En este sentido el verbascósido es un compuesto que posee en su estructura molecular zonas cromóforas a la luz UV y actividad antioxidante, por lo que se plantea la siguiente pregunta científica: ¿Será el verbascósido un fotoquimioprotector?

# *Hipótesis*

Debido a que el verbascósido presenta en su estructura zonas cromóforas a la luz ultravioleta y regiones con propiedades antioxidantes, entonces el verbascósido tendrá efecto quimioprotector contra el desarrollo de neoplasias en piel de ratones SKH-1 expuestos a RUV.



# Objetivos

## 6.1 Objetivo general

Evaluar el efecto quimioprotector del verbascósido contra el desarrollo de neoplasias en piel de ratones SKH-1.

## 6.2 Objetivos particulares

Aislar el verbascósido a partir del extracto metanólico de *Buddleja cordata*.

Inducir el desarrollo de neoplasias en ratones de la cepa SKH-1 mediante la exposición a RUV de manera crónica con y sin verbascósido.

Determinar la incidencia y multiplicidad de tumores a nivel macroscópico en piel de ratones SKH-1 expuestos a RUV con y sin verbascósido.

Realizar un diagnóstico histopatológico en la piel de ratones SKH-1 expuestos a RUV con y sin verbascósido.

*Estrategia  
Experimental*





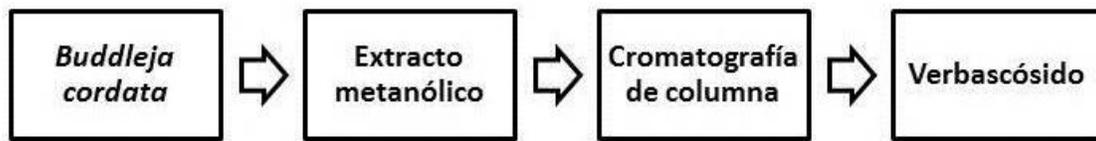


Figura 14. Diagrama de flujo para la obtención del verbascósido.

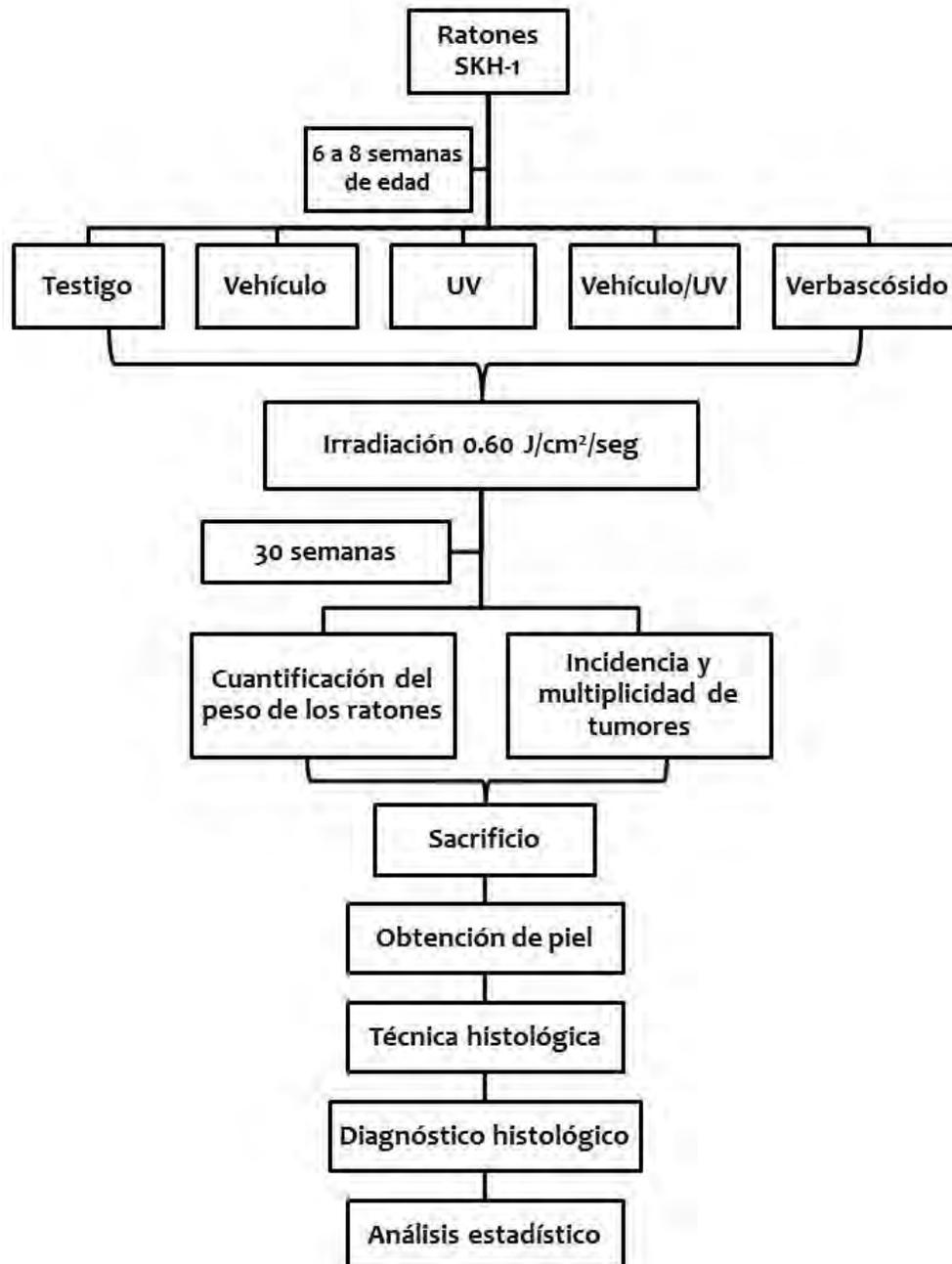


Figura 15. Diagrama de flujo del experimento crónico.



## Aislamiento del verbascósido

De la planta *Buddleja cordata* se preparó un extracto metanólico y a partir de éste se aisló el verbascósido mediante una cromatografía de adsorción en columna abierta (CC) usando como fase estacionaria gel de sílice (Macherey-Nagel) y utilizando como eluyente una mezcla de diclorometano-metanol ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ ) en las concentraciones 9:1, 8:2 y 7:3 consecutivamente.

En el fraccionamiento del extracto se recolectaron 121 alícuotas de 500 ml, las cuales se destilaron a presión reducida. Posteriormente las fracciones obtenidas fueron analizadas por cromatografía en capa fina (CCF) usando placas de aluminio con gel de sílice (Merk) y como eluyente mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH (de acuerdo a la CC). Además se utilizó una lámpara de luz UV a 254/366 nm y una solución de sulfato cérico concentrado en ácido sulfúrico igualmente concentrado como reveladores, y de acuerdo a su patrón cromatográfico se reunieron en 4 fracciones (cuadro 12).

**Cuadro 12.** Fraccionamiento del extracto de *Buddleja cordata*.

<b>Alícuotas combinadas</b>	<b>Proporción del eluyente <math>\text{CH}_2\text{Cl}_2</math>-MeOH</b>	<b>Fracción</b>
1-36	9:1	A
37-93	8:2	B *
94-107	7:3	C
108-121	7:3	D

\* Fracción donde se encontró el verbascósido.

## Determinación del espectro de absorción del verbascósido

A la fracción B del extracto metanólico de *B. cordata* se le realizó un barrido de 200 a 400 nm (Avila, 2002) para verificar la presencia del verbascósido utilizando un espectrofotómetro UV/VIS (UNICO Mod. 2800).

## Animales

De Charles River Laboratories International, Inc. (Kingston, NY) se obtuvieron 30 ratones hembra de la cepa SKH-1 de 6 a 8 semanas de edad. Los animales fueron mantenidos en el bioterio de la FES-Iztacala UNAM y se aclimataron durante una semana antes de realizar los experimentos, fueron alimentados con agua y alimento Harlan *ad libitum*, y se mantuvieron en una habitación en condiciones estériles con



un ciclo de 12 h de luz y 12 h de obscuridad a una temperatura de 23 a 25° C y una humedad relativa del 45-55%.

### Fuente de luz UV-B

Para realizar los experimentos se utilizaron dos lámparas que emiten luz UV-B (312 nm, Spectroline EB-280C). La dosis de irradiación utilizada fue de 0.60 J/cm<sup>2</sup>, la cual se determinó con un radiómetro (Spectroline DM-300HA).

### Experimento crónico con ratones SKH-1 para el desarrollo de tumores inducidos por RUV-B

Para evaluar el efecto fotoprotector del verbascósido los ratones SKH-1 fueron divididos aleatoriamente en cinco grupos de la siguiente manera:

**Cuadro 13.** Grupos para evaluar el efecto fotoprotector del verbascósido en ratones SKH-1.

Tratamiento	No. Ratones
Testigo	5
Vehículo	5
Radiación UV	5
Vehículo-UV	5
Verbascósido	10

El verbascósido se aplicó de manera tópica en la parte dorsal de cada animal a una concentración 1 mM utilizando como vehículo glicerina, aplicando 100 µl a cada ratón. Los ratones fueron colocados en cajas de acrílico especiales para la irradiación y las lámparas fueron situadas a 15 cm de la superficie dorsal de los ratones los cuales estuvieron expuestos a la radiación durante un minuto diariamente en un periodo de diez días en la fase de iniciación del experimento, a esta distancia la dosis de irradiación que recibieron los animales fue de 0.60 J/cm<sup>2</sup>. Posteriormente, se irradiaron tres veces por semana (lunes-miércoles-viernes) que representan las fases de promoción y progresión por un periodo de 31 semanas, logrando un total de 104 exposiciones. Durante éste proceso se midió de forma semanal el peso de los ratones como un indicador de salud utilizando una báscula digital (Ohaus CS200). Se determinó la incidencia y multiplicidad en la formación de tumores a nivel



macroscópico, además se midió el tamaño de las lesiones con un vernier (Surtek 122204).

Finalmente, los ratones fueron sacrificados 24 horas después del último tratamiento mediante asfixia en cámara de CO<sub>2</sub>, se obtuvieron muestras de piel del dorso de cada animal las cuales se mantuvieron en frascos de vidrio con *para*-formaldehído al 2% disuelto en PBS 0.1M a un pH de 7 el cual sirvió como fijador y se almacenaron a temperatura ambiente hasta su procesamiento histológico.

## Procesamiento histológico

Las muestras de piel de los ratones se fijaron con paraformaldehído al 2% disuelto en PBS, enseguida se deshidrataron sucesivamente con alcoholes de diferentes concentraciones hasta llegar a alcohol absoluto, posteriormente se sumergieron en xileno y se incluyeron en parafina. Se realizaron cortes de 3  $\mu\text{m}$  de espesor y se efectuaron las tinciones de hematoxilina-eosina, tricrómica de Masson y la reacción de PAS (ANEXO 1).

## Diagnóstico histopatológico

Las laminillas obtenidas se observaron al microscopio óptico (Leica DM500) y se realizó el diagnóstico histopatológico donde se determinaron los cambios presentados a nivel de epidermis y dermis, asimismo se describieron las características de cada grupo experimental. Finalmente en base a la clasificación propuesta por Gallagher (1984) y en la descripción histológica de Milikowski y Berman (1997) se realizó la siguiente categorización para evaluar los daños ocasionados por la RUV.

**Cuadro 14.** Clasificación de las lesiones observadas en la piel de ratones SKH-1.

---

Sin daño aparente
Hiperplasia con o sin hipertrofia
Lesión precancerosa
Carcinoma espinocelular (CEC)

---



## Análisis estadístico

Los datos correspondientes a las variables de peso corporal de los ratones, promedio de neoplasias por ratón, diámetro de las neoplasias y las cifras obtenidas a partir del diagnóstico histopatológico fueron procesados mediante análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias de Tukey con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System Institute Inc.) versión 9.0; se utilizó una  $p \leq 0.05$  y todos los valores se expresan como media  $\pm$  error estándar. La incidencia de tumores se expresa en términos de frecuencia y las diferencias entre grupos se evaluaron mediante análisis de Chi cuadrada con una  $p \leq 0.05$ , utilizando el software Microsoft Excel versión 2010.

*Resultados*

*&*

*Discusión*







## Obtención del verbascósido y determinación de su espectro de absorción

La presencia del verbascósido en las fracciones obtenidas del extracto metanólico de la planta *B. cordata* se determinó por similitud en el Rf de una muestra auténtica mediante CCF, el revelado con luz UV y con la solución de sulfato cérico en ácido sulfúrico concentrado se determinó que el compuesto está presente en la fracción B eluida con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH en un porcentaje 80:20. El análisis en el espectro ultravioleta de ésta fracción mostró dos picos máximos de absorción en  $\lambda_{\max}$  291 y 332 nm lo cual corresponde al verbascósido aislado por Avila (2002).

## Experimento crónico con ratones SKH-1 para el desarrollo de tumores inducidos por RUV

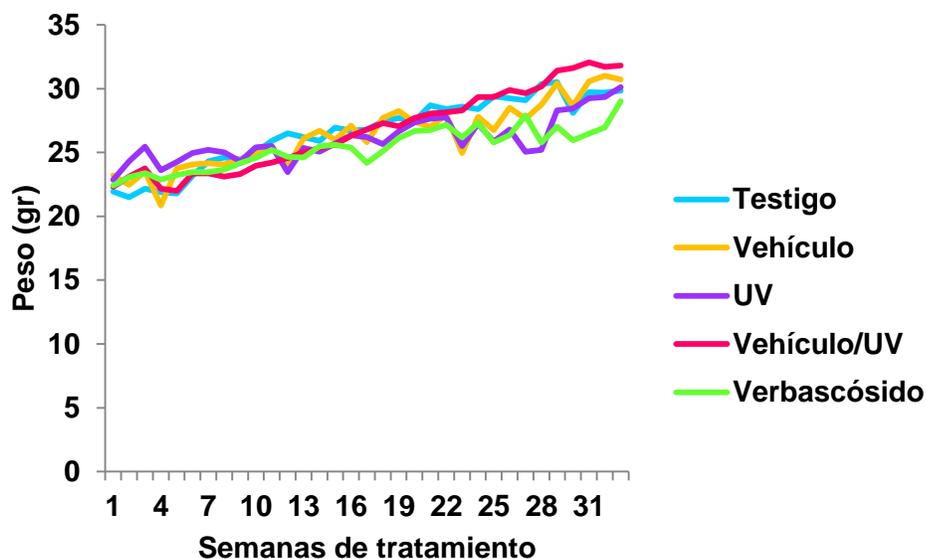
Los modelos de ratón son útiles en el estudio del cáncer, debido a que su ciclo de vida corto permite acelerar los acontecimientos que normalmente tomarían mucho tiempo desarrollarse en humanos, asimismo los genes implicados y los principios de desarrollo de ésta patología son similares entre éstos dos organismos [Kemp, 2005; Bissett *et al*, 1989].

En este trabajo de investigación se utilizaron ratones sin pelo de la cepa SKH-1 los cuales nacen con un pelaje aparentemente normal pero alrededor de los 12 días posteriores a su nacimiento comienzan a perder el pelo y a las 3 o 4 semanas de edad presentan alopecia total, aunque algunos animales más viejos pueden poseer algunos pelos desorientados. La ausencia de pelo aunado a la falta de pigmentación, la delgadez de la piel y los defectos en su sistema inmune hacen a estos animales mucho más susceptibles a la RUV. Además existe una gran similitud entre las lesiones desarrolladas por estos animales de forma experimental con las que se presentan en la piel humana como papilomas, queratoacantomas y CEC tras la exposición crónica a la RUV, por lo que se considera a este modelo de ratones desnudos adecuado para evaluar los efectos crónicos ocasionado por esta radiación así como para el estudio de sustancias antioxidantes y fotoprotectoras. [Kawasumi *et al*, 2011; Cano *et al*, 2010; Cachón-González *et al*, 1994; Moloney y Learn, 1992; Bissett *et al*, 1989; Montagna *et al*, 1952].

Los ratones SKH-1, en este trabajo, estuvieron expuestos de manera crónica a una dosis mínima de irradiación o suberitematogénica de RUV-B de 600 mJ/cm<sup>2</sup> que es equivalente a la que recibe el hombre al exponerse al sol con las actividades cotidianas, que se estima es de aproximadamente 50-100 mJ/cm<sup>2</sup>/día. Por lo tanto estas cantidades de irradiación son adecuadas para investigaciones enfocadas a la

fotoprotección comparado con otros trabajos donde utilizan dosis mucho más elevadas, ya que el objetivo es hallar sustancias capaces de proteger al hombre de los daños causados por la radiación solar a la que están expuestos de forma natural [Chilampalli *et al*, 2011; Dinkova-Kostova *et al*, 2008; Gu *et al*, 2007].

El estado de salud de los ratones fue bueno durante todo el periodo experimental donde se observó un crecimiento intermitente durante las 33 semanas con un peso inicial promedio de 21.95 g en los ratones testigo, 23.2 g para el grupo al que sólo se le aplicó vehículo, 22.85 g para los ratones irradiados con UV, 22.3 g en el grupo vehículo/UV y 22.4 g en los ratones tratados con verbascósido; al finalizar el experimento los pesos corporales fueron de 29.85 g, 30.7 g, 30.1 g, 31.8 g y 29.02 g respectivamente. El tratamiento con verbascósido presentó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en comparación con los demás grupos, debido a que los ratones presentaron un menor peso en gran parte del experimento, pero su desarrollo no se vió afectado (Gráfica 2).



**Gráfica 2.** Peso de los ratones durante el tratamiento.

Un individuo del tratamiento con verbascósido desarrolló un cúmulo anormal de queratina en el costado izquierdo cercano a la cabeza (Figura 16) que se diagnosticó como hiperqueratosis paraqueratósica, mientras que en la dermis subyacente se observó colágena muy compacta con fibroblastos activos, acompañado de un desarreglo epitelial marcado y un infiltrado leve de neutrófilos. Esta anomalía puede estar relacionada con la mutación que presentan éstos animales;



Montagna *et al.* (1952) describen que después de perder el pelo la piel de los ratones se vuelve más gruesa, especialmente alrededor de la cabeza donde en los ratones más viejos puede alcanzar una condición de rinoceronte. El comportamiento de dicho individuo no se vio alterado y otro animal del grupo testigo murió de causas no determinadas, mostrando únicamente palidez generalizada.



**Figura 16.** Ratón con cúmulo anormal de queratina del tratamiento con verbascósido.

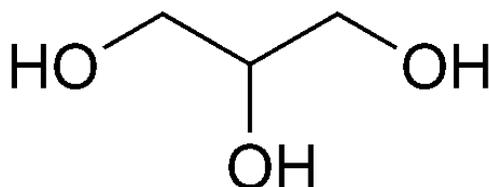
La aplicación tópica del verbascósido como control no fue considerada en este trabajo, ya que estudios previos han descrito que los animales a los cuales se les aplicó este compuesto no presentaron ningún efecto en la piel de manera macroscópica, lo que sugiere que la dosis empleada es apropiada aunque histológicamente se encontraron alteraciones inflamatorias, desprendimiento del estrato córneo, hiperplasia e hipertrofia leves lo cual puede ser atribuido al vehículo empleado [Fuentes, 2011; Avila *et al.*, 2005].

En la mayoría de los trabajos referentes a quimioprotección se utiliza como vehículo acetona y en menor medida etanol, en esta investigación se utilizó glicerina, ya que el uso de disolventes orgánicos en productos para el cuidado de la piel o tratamientos tópicos con agentes farmacológicos no son clínicamente apropiados [Mittal *et al.*, 2003]. Por otra parte las pruebas realizadas previas al comienzo del experimento mostraron que el verbascósido se disuelve de manera homogénea en la glicerina y al mismo tiempo facilitó la aplicación en el dorso de los ratones con la ayuda de un pincel asegurando que el compuesto estuviera distribuido de manera uniforme y cubriera por completo el área.



La glicerina o glicerol ( $C_3H_8O_3$ ) es un alcohol trivalente simple, se considera un derivado del propano por lo que también se le denomina 1,2,3-propanotriol (Figura 17). El término glicerina es aplicado al producto comercial que generalmente contiene un 95% o más de glicerol y un pequeño porcentaje de agua, mientras que el glicerol se refiere al compuesto químico 1,2,3-propanotriol y al contenido de éste en una formulación [IPCS, 2012; Miner y Dalton, 1953].

Físicamente, el glicerol es un líquido viscoso e incoloro a temperatura ambiente, miscible en agua y alcohol, inodoro cuando es puro, es higroscópico, posee un punto de ebullición alto, tiene sabor dulce y presenta pH neutro. Químicamente es un alcohol trihídrico, con un peso molecular de 92.09 y estructuralmente presenta dos hidroxilos primarios y uno secundario, es muy estable en la mayoría de condiciones, pero puede hacerse reaccionar para formar muchos derivados [Miner y Dalton, 1953].



**Figura 17.** Estructura química del glicerol.

**Fuente:** [http://www.chemistry-reference.com/q\\_compounds.asp?CAS=56-81-5](http://www.chemistry-reference.com/q_compounds.asp?CAS=56-81-5).

El glicerol junto con los ácidos grasos es el componente principal de las células, se encuentra en forma de triglicéridos y fosfolípidos. Es un producto de la degradación de lípidos previo al ciclo de Krebs; en las plantas se originan a partir de hidratos de carbono producidos fotosintéticamente, mientras que en los animales, parece que se forma a través de la asimilación de triglicéridos presentes en los alimentos y por la biosíntesis de otras sustancias alimenticias, especialmente los carbohidratos [SDA, 1990; Miner y Dalton, 1953].

Industrialmente la glicerina se obtiene a partir de grasas y aceites que han sido saponificados, hidrolizados, o transesterificados, y posteriormente se purifica por destilación, o se sintetiza a partir del propileno. Tiene muchos usos en las industrias de alimentos, de tabaco, de papel, de cuero, textil, farmacéutica, plástica y cosmética [Zheng-Xiang *et al*, 2001; Miner y Dalton, 1953].

La glicerina se utiliza ampliamente en productos cosméticos y otros productos de tocador, siendo prácticamente no tóxico, no irritante e inodoro. Funciona como



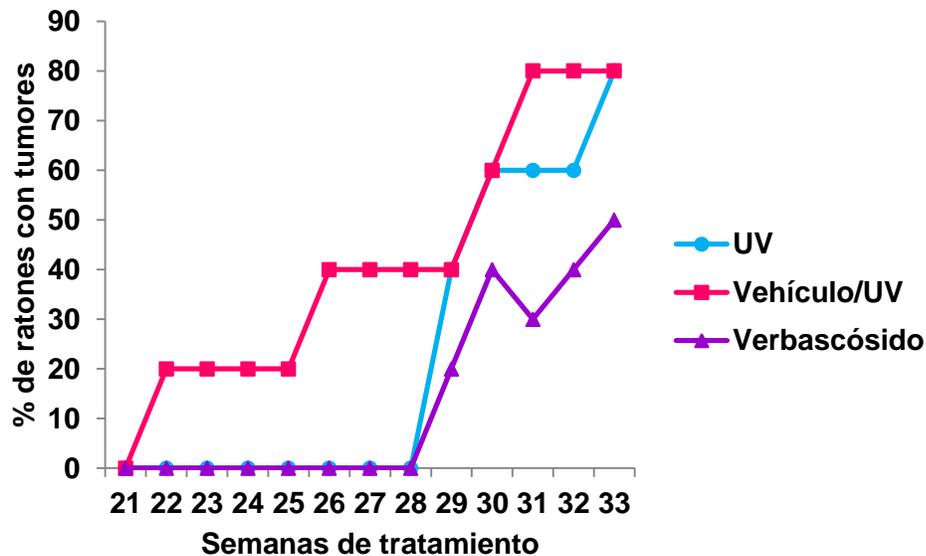
humectante, y emoliente, es un ingrediente importante en pasta de dientes. Otros usos incluyen cremas para la piel, productos para el afeitado, desodorantes y maquillaje [Miner y Dalton, 1953].

La incidencia de tumores al finalizar las 33 semanas del experimento fue del 80% para los grupos UV y vehículo/UV mientras que para el tratamiento con verbascósido fue del 50%, presentando este último diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en la disminución del número de tumores reduciendo un 37.5% del daño; las primeras lesiones fueron detectadas en la semana 22 para el tratamiento de vehículo/UV, mientras que en los grupos UV y verbascósido se identificaron hasta la semana 29; por lo que no podemos determinar si el verbascósido retrasó la aparición de las neoplasias (Cuadro 15) (Gráfica 3).

**Cuadro 15.** Incidencia y multiplicidad de neoplasias en ratones SKH-1.

Tiempo (semanas)	Testigo		UV		Vehículo/UV		Verbascósido	
	I	M	I	M	I	M	I	M
25	0/5 (0%)	0	0/5 (0%)	0	1/5 (20%)	0.2	0/10 (0%)	0
26	0/5 (0%)	0	0/5 (0%)	0	2/5 (40%)	0.4	0/10 (0%)	0
27	0/5 (0%)	0	0/5 (0%)	0	2/5 (40%)	0.4	0/10 (0%)	0
28	0/5 (0%)	0	0/5 (0%)	0	2/5 (40%)	0.4	0/10 (0%)	0
29	0/5 (0%)	0	2/5 (40%)	0.4	2/5 (40%)	0.6	2/10 (20%)	0.3
30	0/5 (0%)	0	3/5 (60%)	0.6	3/5 (60%)	1.0	4/10 (40%)	0.4
31	0/4 (0%)	0	3/5 (60%)	0.6	4/5 (80%)	1.4	3/10 (30%)	0.4
32	0/4 (0%)	0	3/5 (60%)	1.0	4/5 (80%)	3.6	4/10 (40%)	0.6
33	0/4 (0%)	0	4/5 (80%)	1.8	4/5 (80%)	3.6	5/10 (50%)	2.1

**I:** incidencia, **M:** multiplicidad.



**Gráfica 3.** Incidencia de tumores durante el tratamiento.

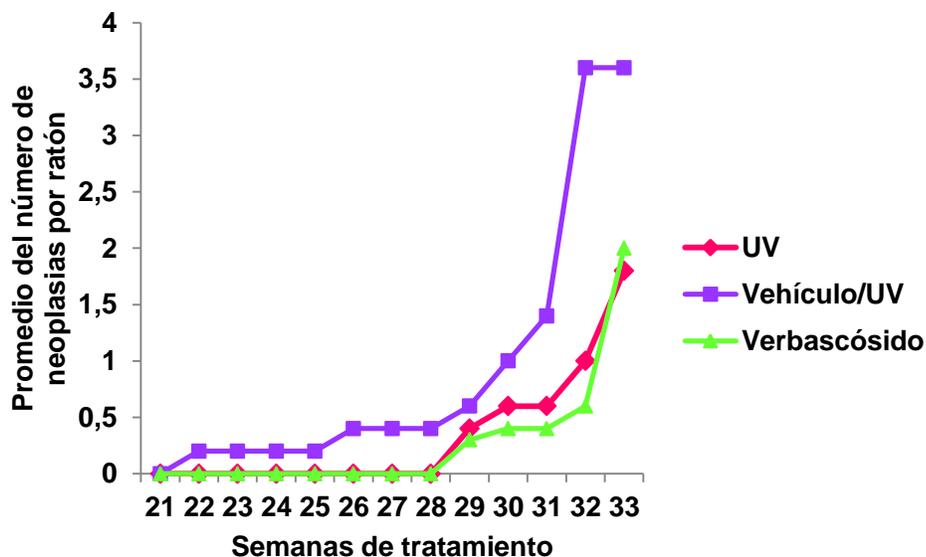
En la multiplicidad de tumores el promedio de neoplasias por ratón fue de 1.8, 3.6 y 2.1 respectivamente para los tratamientos UV, vehículo/UV y verbascósido. El análisis de varianza ( $p \leq 0.05$ ) no mostró diferencias significativas entre los tratamientos pero es importante destacar que el coeficiente de variación obtenido (84.2%) nos indica que este fenómeno no puede ser explicado estadísticamente, probablemente se requiere aumentar el número de individuos para tener una mayor homogeneidad en los datos o se debe a las variables intrínsecas de cada animal que no pueden ser controladas, como la respuesta inmune; no obstante el grupo vehículo/UV presentó una mayor tendencia al desarrollo de neoplasias por lo que probablemente el verbascósido presentó un efecto en la disminución del número de los tumores (Cuadros 15, 16) (Gráficas 4,5).

**Cuadro 16.** Análisis de varianza para la variable de tumores por ratón.

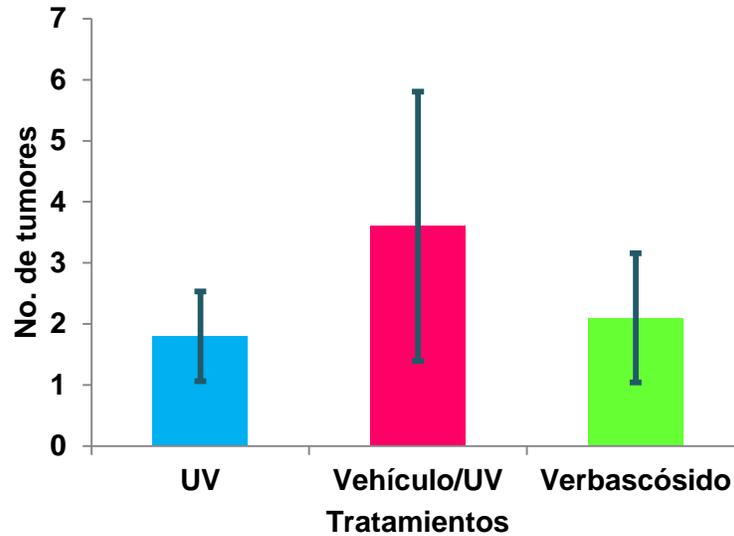
Tratamientos	Tumores por ratón
UV	1.8 a <sup>z</sup>
Vehículo/UV	3.6 a
Verbascósido	2.1 a
DMSH	1.9
CV (%)	84.2

<sup>z</sup> Valores con la misma letra en cada columna no son diferentes entre sí de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $p \leq 0.05$ .

**DMSH:** diferencia mínima significativa honesta; **CV:** coeficiente de variación.



**Gráfica 4.** Multiplicidad de tumores durante el tratamiento.



**Gráfica 5.** Promedio de neoplasias por raton en cada tratamiento.

Macroscópicamente las lesiones inducidas por la RUV presentaron características morfológicas similares en los tres grupos y se catalogaron como pápulas y tumores exofíticos, esta clasificación se basa en la similitud histológica con lesiones presentes en humanos [Gallagher *et al*, 1984].

Las pápulas se describen como una elevación circunscrita de la piel que se forma a partir de la epidermis, tienen un diámetro inferior a 1 mm, muestran un color rojo y pueden ser de tipo benigno, maligno o inflamatorio. El tumor exofítico es un crecimiento que se proyecta desde la superficie de la piel y tiene un diámetro mayor a 1 mm, la mayoría fue de base sésil y sólo un tumor del grupo vehículo/UV tuvo base pedunculada, presentaron color rojo que puede deberse a la presencia de vasos telangiectásicos e histológicamente se ha reportado que éstos tumores corresponden principalmente a CEC [Arenas, 2009; Gallagher *et al*, 1984].

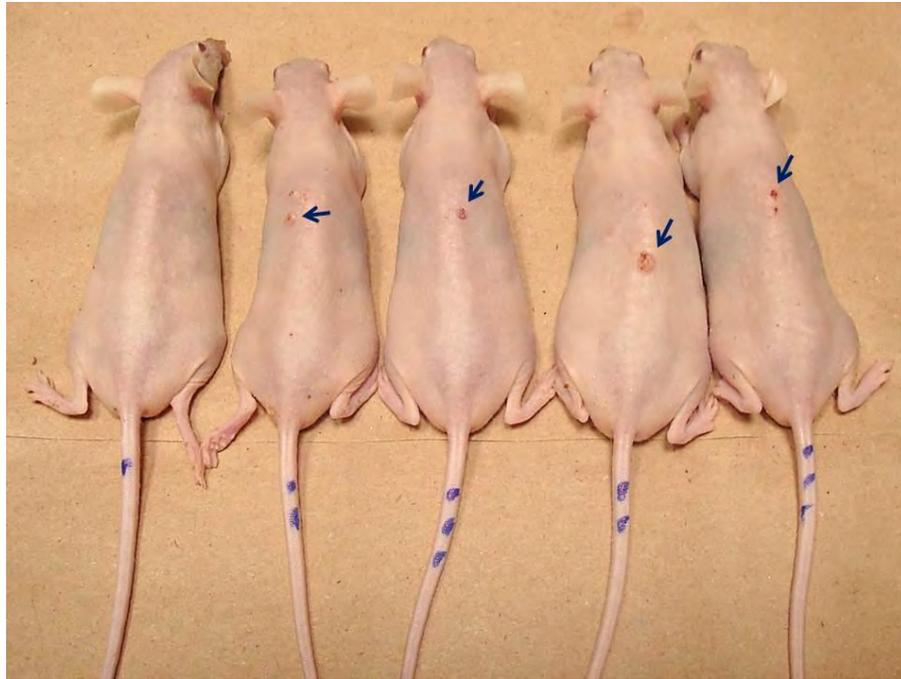
Topográficamente las neoplasias se observaron en la parte dorsal de los animales, sin embargo en las últimas semanas del experimento ya comenzaban a aparecer en la cabeza de algunos de los ratones (Figuras 17-22). Durante el periodo experimental el número de lesiones no fue constante, es decir, algunas lesiones desaparecieron o disminuyeron su tamaño. Gallagher *et al*. (1984) han reportado que algunas lesiones tienden a remitir en etapas tempranas, lo que puede atribuirse a un incremento en la reparación de los daños a nivel celular.



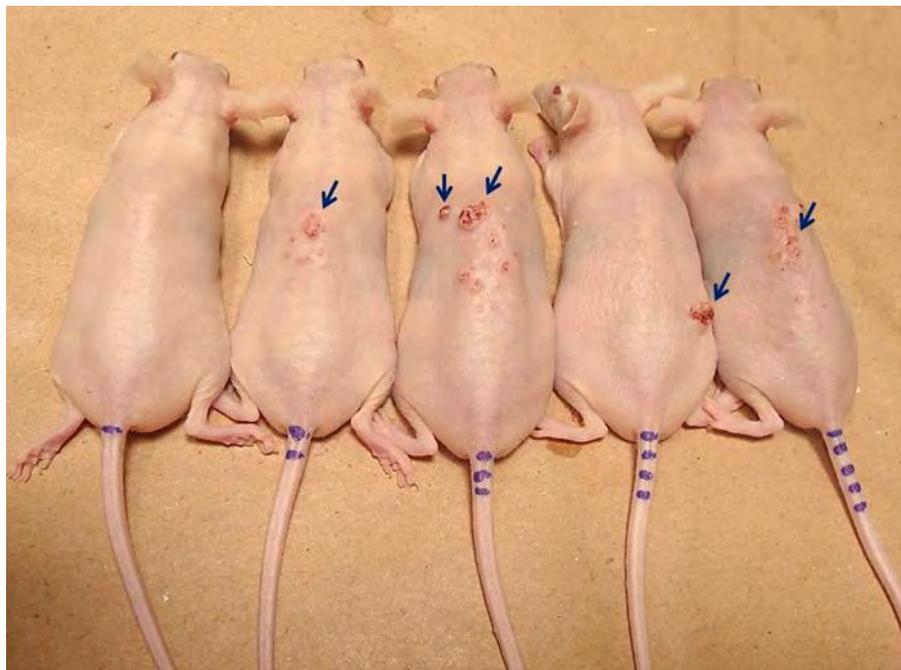
**Figura 18.** Grupo testigo, se muestra la piel normal de ratones SKH-1.



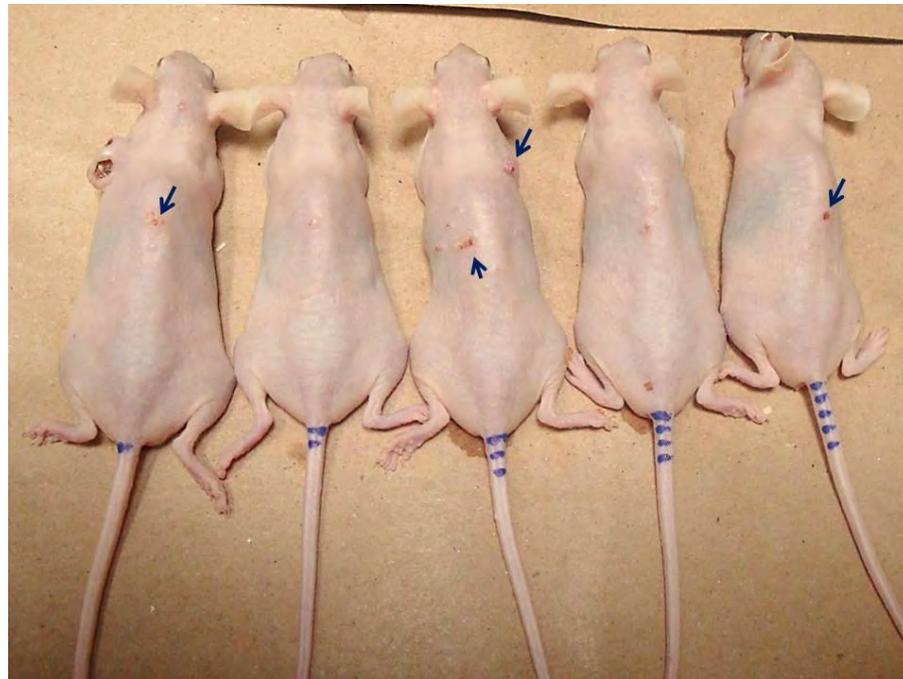
**Figura 19.** Grupo con vehículo, se observa piel sin lesiones.



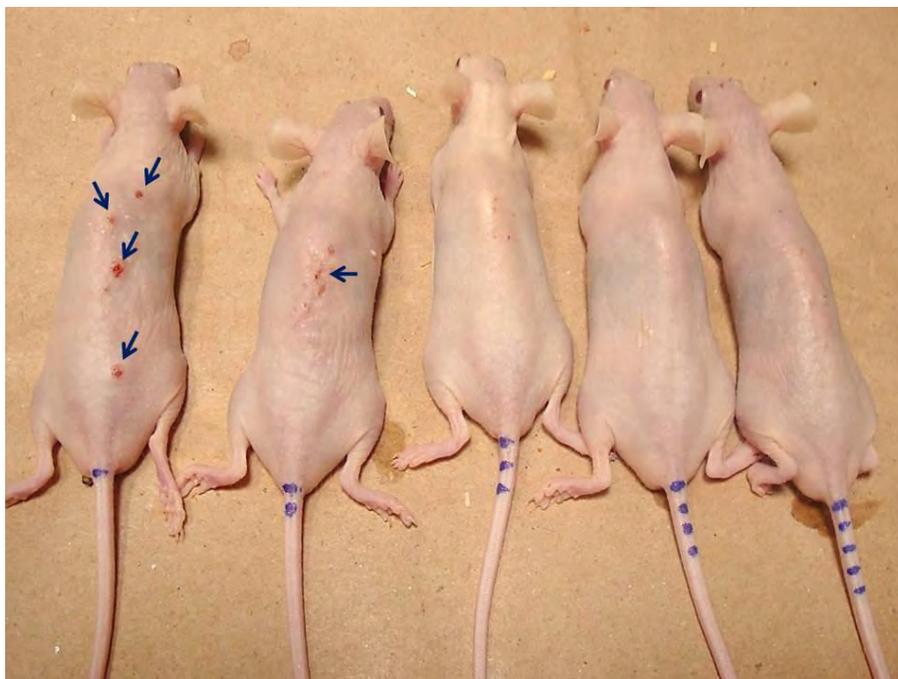
**Figura 20.** Grupo con tratamiento UV-B, se observan tumores pequeños (flechas).



**Figura 21.** Grupo con tratamiento vehículo/UV-B, se observan varios tumores grandes (flechas).



**Figura 22.** Tratamiento con verbascósido I, se observan tumores muy pequeños (flechas).



**Figura 23.** Tratamiento con verbascósido II, se observan tumores de tamaño pequeño en sólo dos animales (flechas).



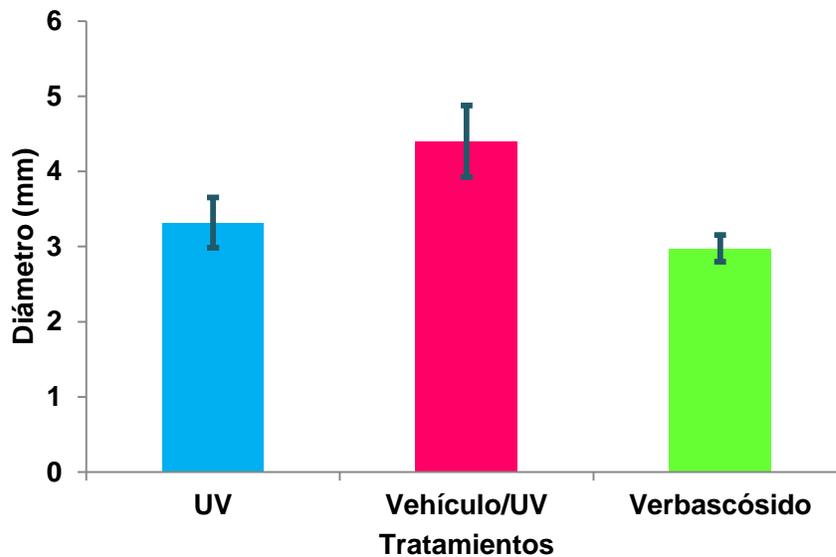
El diámetro promedio de las neoplasias por tratamiento fue mayor en el grupo vehículo/UV con un diámetro de 4.4 mm, seguido por el grupo UV con 3.3 mm y finalmente el grupo tratado con verbascósido con 2.9 mm, encontrando diferencias **significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre el grupo vehículo/UV y el tratamiento con verbascósido**, en base a estos datos se infiere que la aplicación tópica de este compuesto retarda el crecimiento de los tumores (Cuadro 17) (Gráfica 6).

**Cuadro 17.** Análisis de varianza para el diámetro de tumores.

Tratamientos	Diámetro de tumores (mm)
UV	3.3 a,b <sup>z</sup>
Vehículo/UV	4.4 a
Verbascósido	2.9 b
DMSH	1.1
CV (%)	32.01

<sup>z</sup> Valores con la misma letra en cada columna no son diferentes entre sí de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $p \leq 0.05$ .

**DMSH:** diferencia mínima significativa honesta; **CV:** coeficiente de variación.



**Gráfica 6.** Diámetro promedio de las neoplasias por grupo.

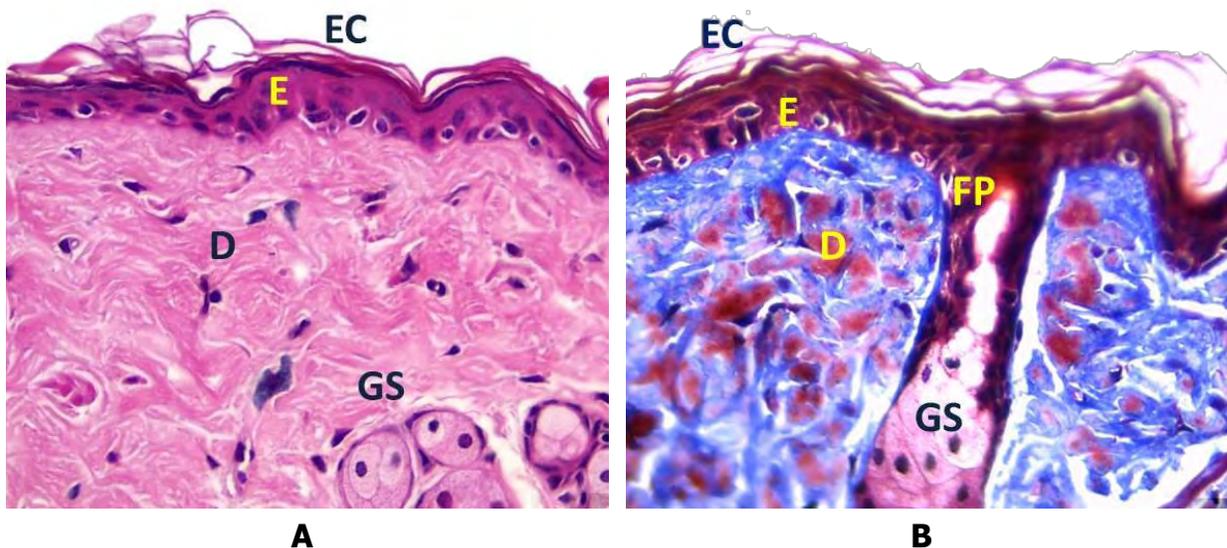
## Descripción histológica de la piel de ratones SKH-1

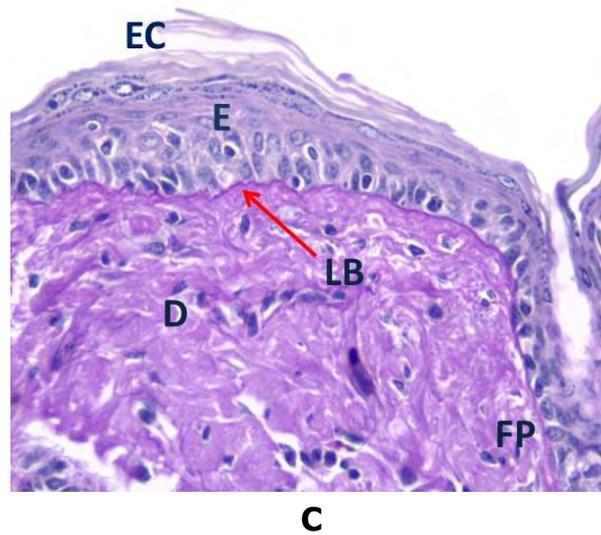
Se obtuvo un total de 96 muestras de piel de ratones SKH-1 de las cuales se realizaron cuatro laminillas con 4 a 6 cortes en cada una obteniendo un total de 384, posteriormente se realizaron las tinciones de hematoxilina-eosina, tricrómica de Masson y la reacción de PAS (Figura 24).

La tinción de hematoxilina-eosina es la tinción general de rutina para la descripción básica de la morfología de un tejido y para el diagnóstico anatomopatológico. La hematoxilina tiñe de azul los ácidos nucleicos, mientras que la eosina tiñe proteínas de color rosa de modo no específico, por lo tanto en un corte típico los núcleos aparecerán teñidos de azul, las fibras musculares de rosa intenso, y el citoplasma junto con los eritrocitos de rosa claro [Montuenga *et al*, 2009; García, 1993].

Las tinciones tricrómicas resaltan las fibras colágenas del tejido conjuntivo, contienen un colorante nuclear, un colorante para fibras y otro que tiñe citoplasma y otras estructuras. En un corte histológico se observan los núcleos negros, las fibras musculares de rojo, la colágena azul y los eritrocitos de color rojo brillante [Montuenga *et al*, 2009; García, 1993].

La reacción de PAS o ácido periódico de Schiff, muestra la presencia de polisacáridos que se tiñen de rosa púrpura mientras que los núcleos se observan en color azul [Montuenga *et al*, 2009; García, 1993].

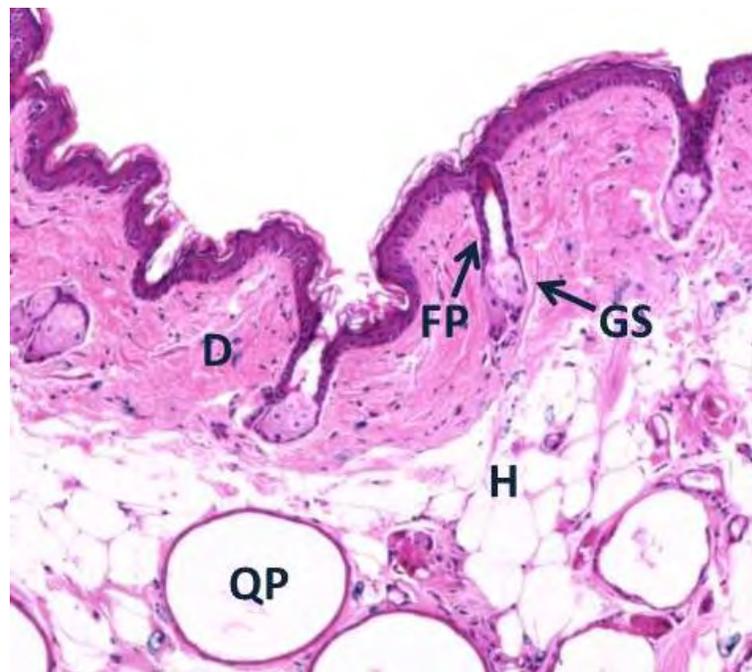




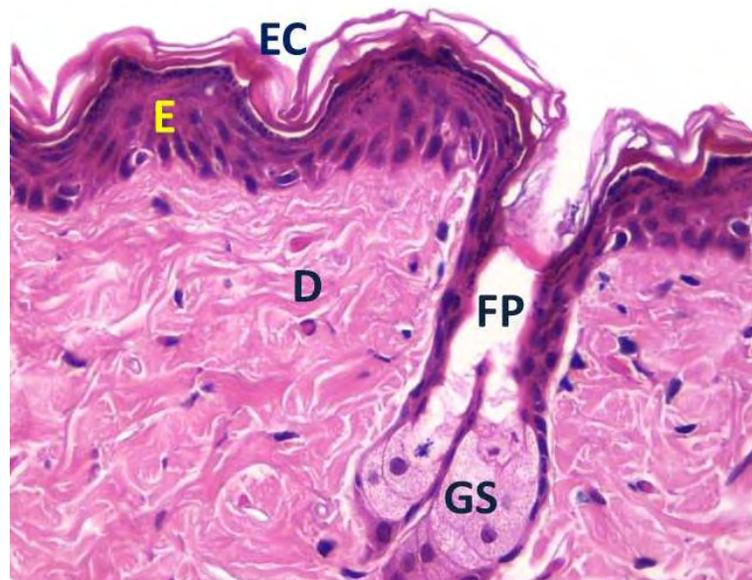
**Figura 24.** Cortes histológicos de piel de ratones SKH-1; (A) Tinción H&E, (B) Tinción tricrómica de Masson, (C) Reacción de PAS.

**Simbología:** EC-estrato córneo, E-epidermis, D-dermis, FP-folículo piloso, GS-glándula sebácea, LB-lámina basal.  
Aumento original 400 X.

La piel normal de los ratones SKH-1 se caracteriza por presentar en la epidermis de 3 a 6 capas de células sin distinción clara entre los estratos basal y espinoso, los estratos granuloso y córneo sólo se observan como una delgada capa. En la dermis se encuentran glándulas sebáceas, folículos pilosos, folículos en degeneración y quistes pilosos que pueden presentar pequeñas cantidades de queratina en forma de láminas concéntricas. Estos quistes son característicos de los ratones sin pelo y se forman a partir de las glándulas sebáceas y de los restos de la vaina externa de las raíces de los folículos después de la pérdida del pelo que se presenta alrededor de los 20 días posteriores a su nacimiento. Con el aumento en la edad de los ratones los quistes aumentan de tamaño, por lo que en animales de 20 a 30 semanas de edad los quistes son muy grandes (Figura 25) [Gallagher *et al*, 1984; Kligman *et al*, 1982; Montagna *et al*, 1952].



A



B

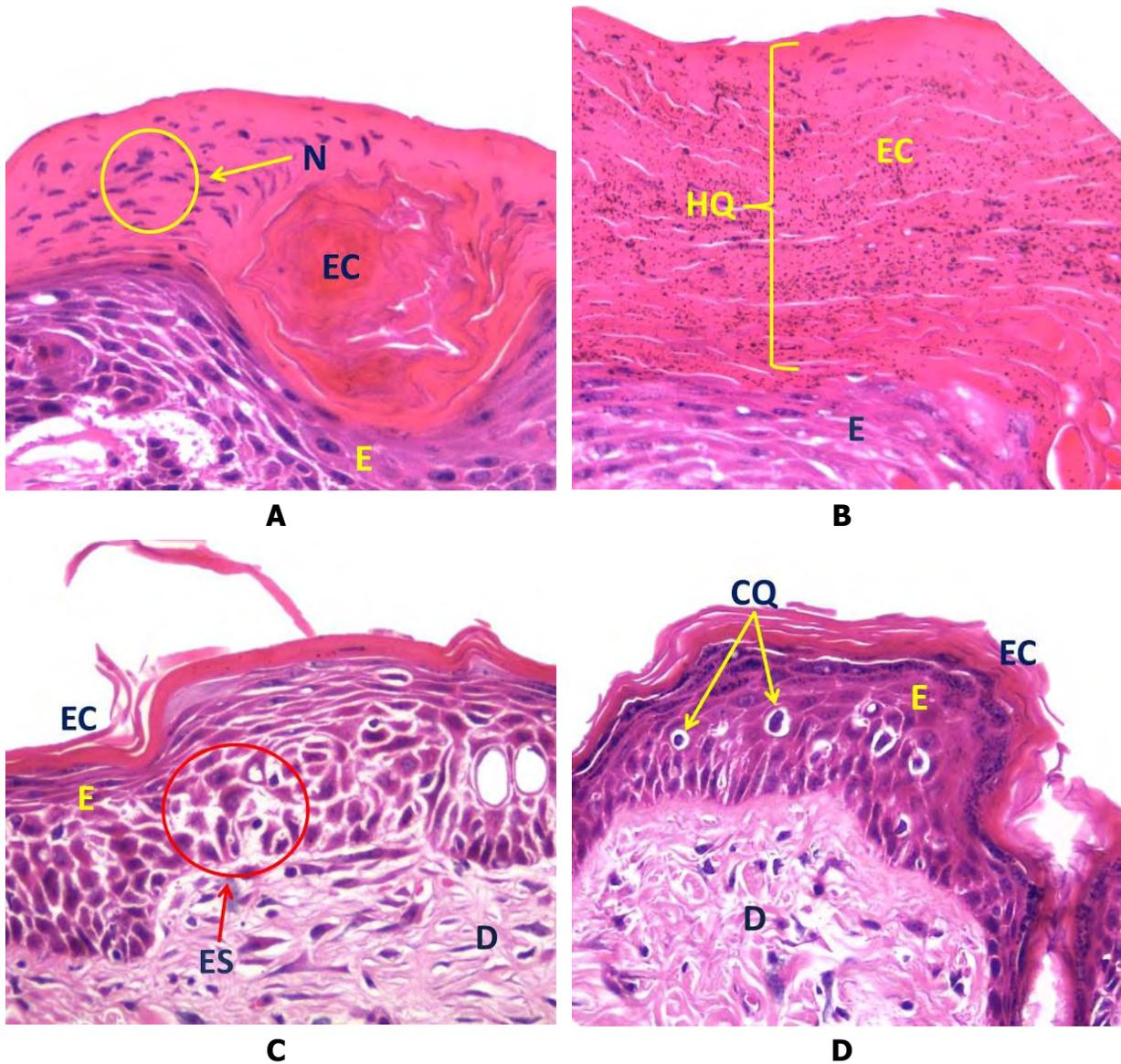
**Figura 25.** Piel normal de ratones SKH-1; (A) Aumento original 40X, (B) Aumento original 400 X.  
**Simbología:** EC-estrato córneo, E-epidermis, D-dermis, FP-folículo piloso, GS-glándula sebácea, H-hipodermis, QP-quiste piloso. Tinción H&E.



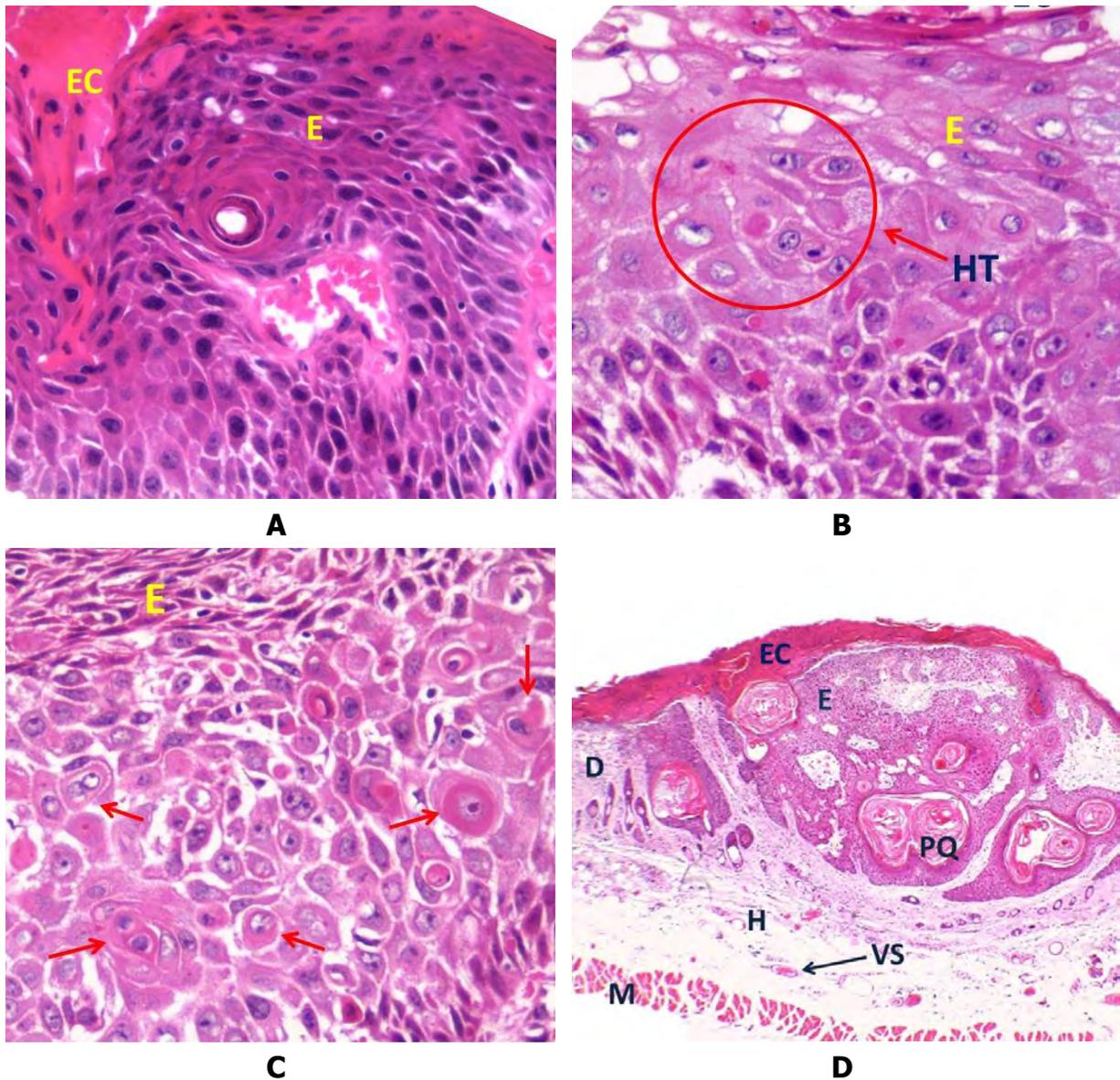
Para realizar el diagnóstico histológico se determinaron los daños ocasionados por la RUV a nivel de epidermis y dermis, los cuales se describen en el cuadro 18 y en las figuras 26 a la 28.

**Cuadro 18.** Daños provocados por la RUV observados en la piel de ratones SKH-1.

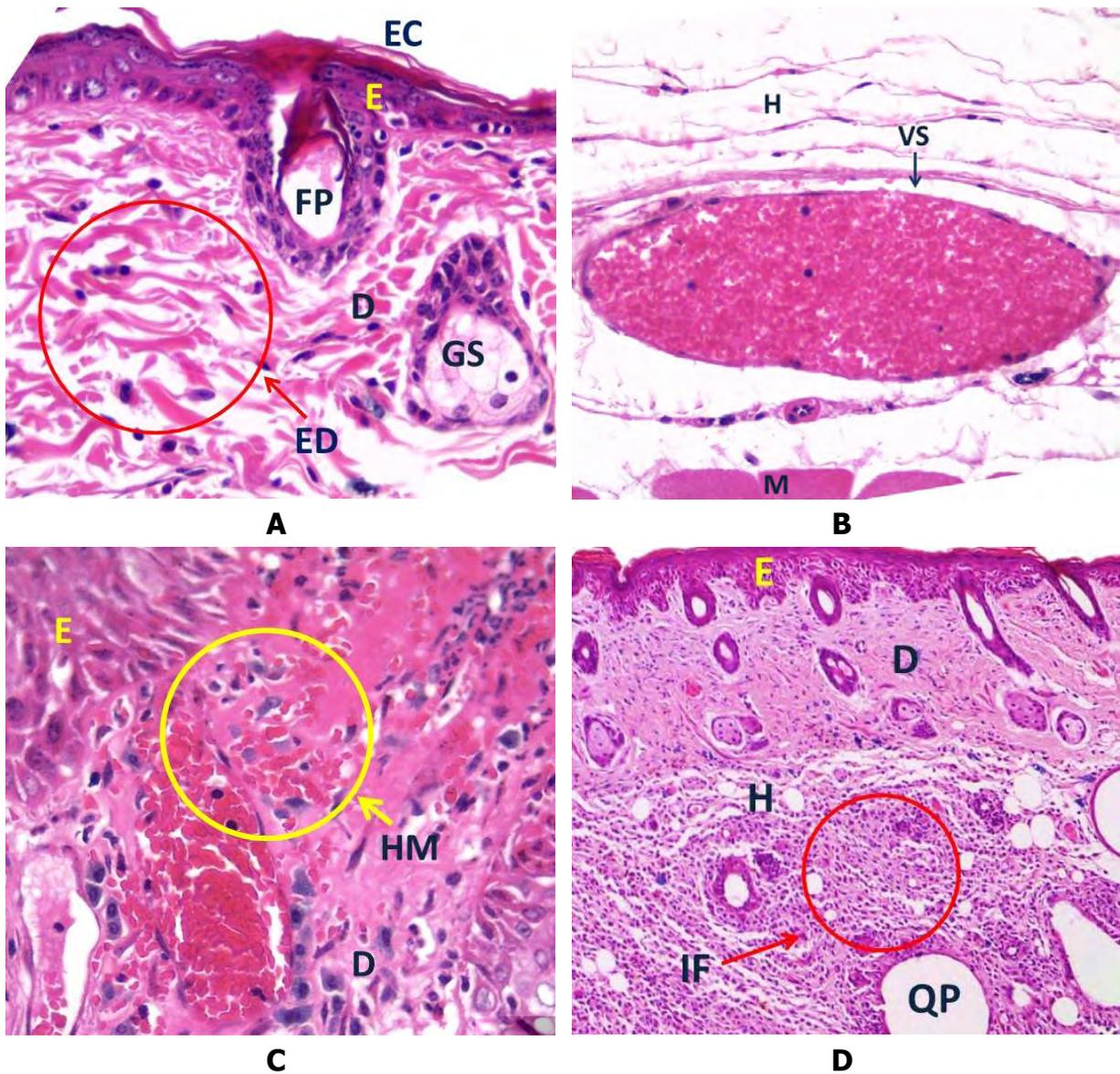
<b>TEJIDO</b>	<b>TIPO DE DAÑO</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>FIGURA</b>
<b>Epidermis</b>	Paraqueratosis	Presencia de núcleos en el estrato córneo.	26 (A)
	Hiperqueratosis	Aumento del estrato córneo.	26 (B)
	Espongiosis	Edema inter o intracelular en la epidermis.	26 (C)
	Células de quemadura	Células apoptóticas.	26 (D)
	Hiperplasia	Aumento del número de células como consecuencia de la división celular.	27 (A)
	Hipertrofia	Aumento del tamaño de las células ya existentes.	27 (B)
	Pleomorfismo celular	Células atípicas o con forma diferente.	27 (C)
<b>Dermis</b>	Neoplasia	Proliferación aumentada y maduración incompleta.	27 (D)
	Edema	Acumulación de fluido entre las células epidérmicas.	28 (A)
	Congestión	Exceso de eritrocitos en vasos sanguíneos.	28 (B)
	Hemorragia	Extravasación de células sanguíneas por la rotura de los vasos.	28 (C)
	Infiltrado inflamatorio	Polimorfos nucleares (neutrófilos y macrófagos).	28 (D)



**Figura 26.** Daños en provocados por RUV; (A) Paraqueratosis, (B) Hiperqueratosis, (C) Espongiosis, (D) Células de quemadura.  
**Simbología:** EC-estrato córneo, E-epidermis, D-dermis, ES-espongiosis, N-núcleos, HQ-hiperqueratosis, CQ-células de quemadura.  
Aumento original 400 X (H&E).



**Figura 27.** Daños provocados por RUV; (A) Hiperplasia, (B) Hipertrofia, (C) Pleomorfismo celular, (D) Neoplasia.  
**Simbología:** EC-estrato córneo, E-epidermis, D-dermis, H-hipodermis, HT-hipertrofia, PQ-perla de queratina, VS-vaso sanguíneo, M-músculo. Aumento original (A, B, C) 400 X, (D) 40X, (H&E).



**Figura 28.** Daños provocados por RUV; (A) Edema, (B) Congestión, (C) Hemorragia, (D) Infiltrado inflamatorio.

**Simbología:** EC-estrato córneo, E-epidermis, D-dermis, FP-folículo piloso, GS-glándula sebácea, H-hipodermis, ED-edema, VS-vaso sanguíneo, M-músculo, HM-hemorragia, IF-infiltrado inflamatorio, QP-quiste piloso. Aumento original (A, B, C) 400 X, (D) 100 X, (H&E).



De manera general, la piel de los ratones de cada grupo mostró las siguientes características:

### **▣ Grupo vehículo**

Los cambios en la piel de los ratones son muy leves y focales. En la epidermis se observaron de 2 a 8 capas de células y ocasionalmente hiperplasia. En la dermis se presentó edema e infiltrado (figura 29). Este infiltrado posiblemente consta de células cebadas, pero se requiere un estudio más específico para determinar su identidad. Bissett *et al.* (1987) han descrito la presencia de estos tipos celulares en la dermis superior. Estas células están presentes en todos los grupos experimentales, sin embargo en ratones jóvenes no se han observado.

### **▣ Grupo UV**

En la epidermis de los ratones de este grupo se observaron de 3 y hasta 20 capas celulares, algunas de las alteraciones consistieron en paraqueratosis, pleomorfismo celular e hiperqueratosis severas difusas, disqueratosis e hiperplasia severas multifocales, espongirosis e hipertrofia moderada multifocal y una cantidad moderada de células de quemadura. Por otro lado la dermis presentó edema e infiltrado inflamatorio moderado difuso y congestión severa multifocal (Figura 29). Moloney y Learn (1992), Bissett *et al.* (1987) y Kligman *et al.* (1982) han reportado que en ratones SKH-1 el infiltrado inflamatorio en la exposición crónica a la RUV consiste principalmente de linfocitos, macrófagos y neutrófilos.

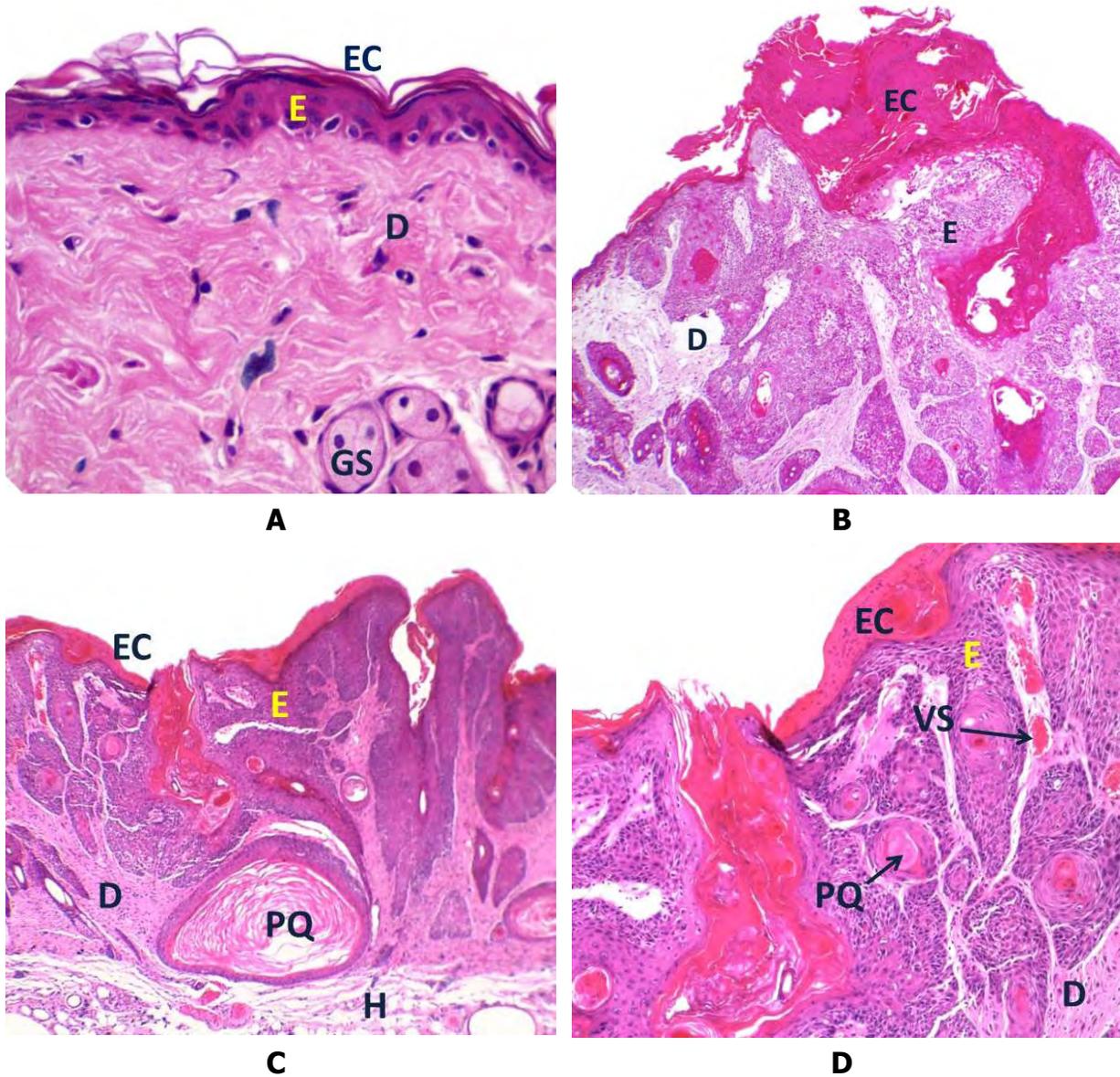
### **▣ Grupo vehículo/UV**

En la epidermis de éstos animales se observaron desde 4 hasta 30 capas de células, algunas de las alteraciones consistieron en paraqueratosis, disqueratosis e hiperqueratosis severa multifocal, espongirosis moderada multifocal, células de quemadura, acantosis e hiperplasia moderadas difusas; displasia, pleomorfismo celular e hipertrofia severas difusas. En dermis se observó de manera severa difusa edema, congestión de vasos sanguíneos e infiltrado inflamatorio, además de hemorragia leve focal (Figura 29).

### **▣ Grupo verbascósido**

En la epidermis se observaron de 5 a 18 capas celulares, algunas de las alteraciones consistieron en paraqueratosis leve focal, hiperqueratosis, hiperplasia, hipertrofia, células de quemadura y espongirosis de manera moderada multifocal,

atrofia leve difusa, acantosis moderada difusa, además de pleomorfismo celular grave focal. En la dermis encontramos edema severo multifocal, congestión de vasos grave focal e infiltrado inflamatorio moderado difuso (Figura 29).



**Figura 29.** Cortes histológicas de la piel de ratones de los diferentes grupos experimentales; (A) Grupo con vehículo, (B) Grupo UV, (C) Grupo vehículo/UV, (D) Grupo verbascósido.  
**Simbología:** EC-estrato córneo, E-epidermis, D-dermis, GS-glándula sebácea, H-hipodermis, PQ-perla de queratina, VS-vaso sanguíneo.  
Aumento original (A) 400 X, (B) 100 X, (C,D) 40 X (H&E).



## Diagnóstico histopatológico de la piel de ratones SKH-1

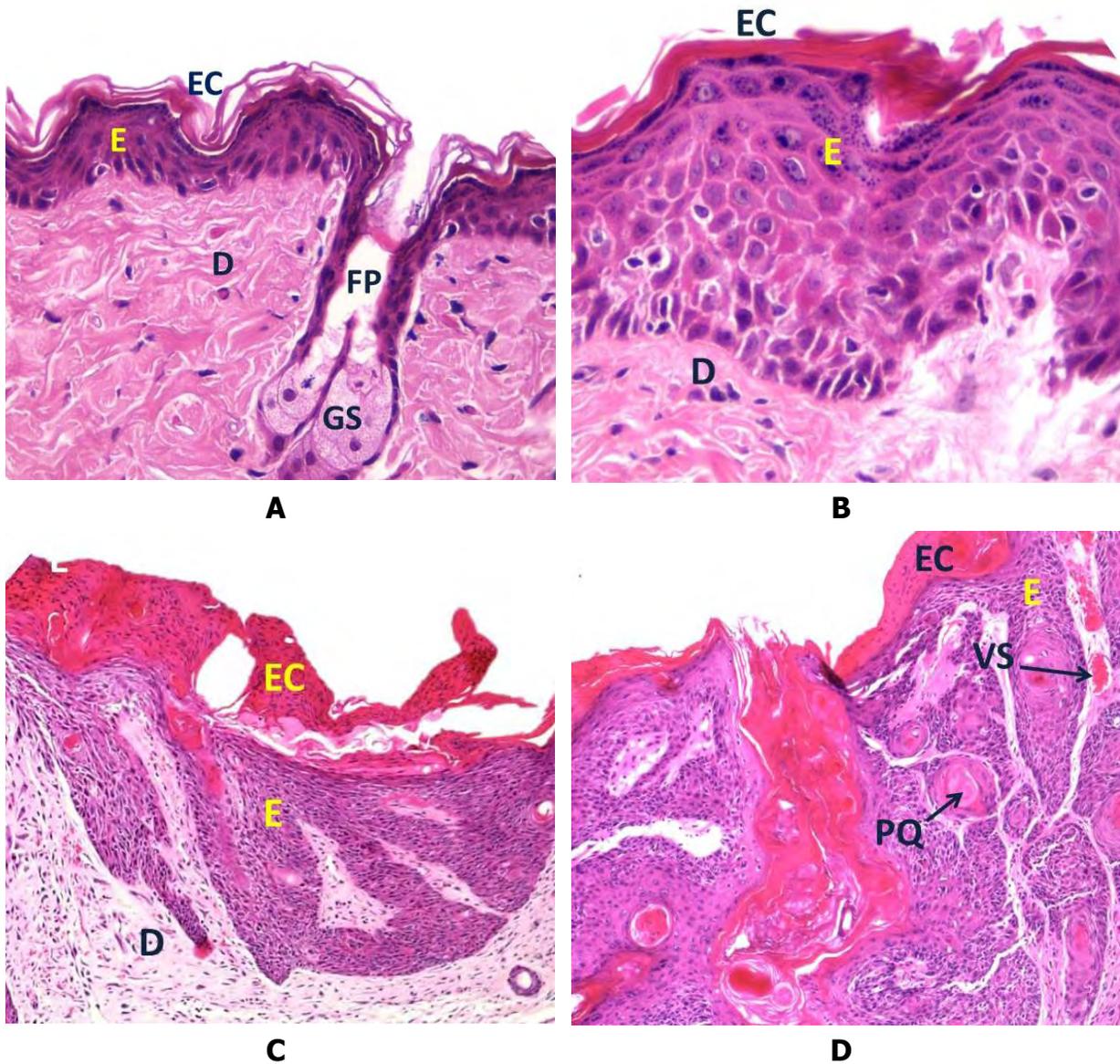
Las diferentes capas de la piel (epidermis, dermis, hipodermis) conforman una unidad, es por eso que los cambios ocurridos en algún estrato van a repercutir en las células vecinas; sin embargo para fines de este estudio y debido a que se ha reportado que la radiación UVB sólo alcanza la epidermis, en este trabajo se realizó el diagnóstico histológico tomando en cuenta exclusivamente los daños observados en dicho estrato.

La RUV induce varios tipos de daños que van desde lesiones preneoplásicas como hiperplasia epidérmica, evolucionando hacia tumores benignos como papilomas que posteriormente pueden transformarse en queratoacantomas y tumores malignos como carcinoma *in situ* o CEC. La pérdida de la apoptosis y rápida proliferación celular son los principales factores responsables de la tumorigénesis [Chilampalli *et al*, 2011; D'Agostini *et al*, 2005]. En el cuadro 19 y en la figura 30 se muestra la clasificación realizada para realizar el diagnóstico histopatológico.

**Cuadro 19.** Clasificación de las lesiones observadas en la piel de ratones SKH-1.

Sin daño aparente
Hiperplasia con o sin hipertrofia
Lesión precancerosa
Carcinoma espinocelular (CEC)

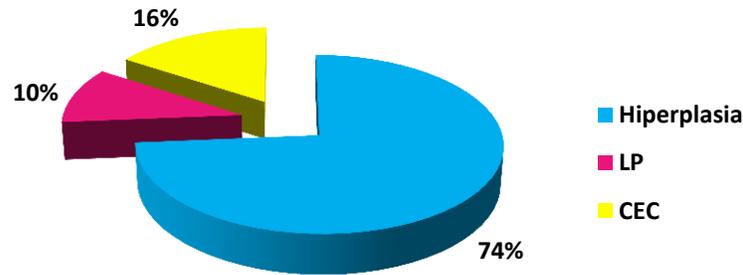
La hiperplasia se caracteriza por una proliferación aumentada de la epidermis, mientras que las lesiones precancerosas muestran una ligera invasión en dermis presentando proyecciones similares a dedos con algunas células atípicas; siendo estos dos benignos. Por otro lado el CEC es completamente invasor, al penetrar en la dermis, se puede presentar una pérdida en la continuidad de la membrana basal [Wulff *et al*, 2008].



**Figura 30.** Clasificación de las lesiones observadas en piel de ratones SKH-1; (A) Piel normal, (B) Hiperplasia, (C) Lesión precancerosa, (D) CEC  
**Simbología:** EC-estrato córneo, E-epidermis, D-dermis, FP-folículo piloso, GS-glándula sebácea, VS-vaso sanguíneo, PQ-perla de queratina.  
Aumento original (A, B) 400 X, (C) 100 X, (D) 40 X (H&E).

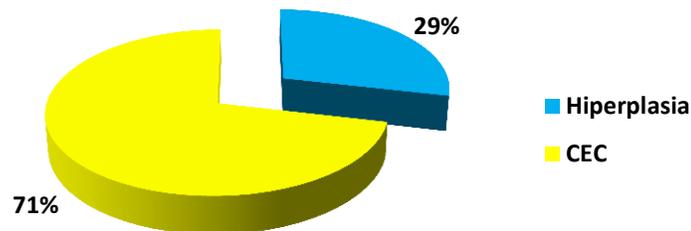


El diagnóstico histopatológico para el grupo UV, mostró que el 74% de las neoplasias presentadas corresponden a hiperplasia, seguido por carcinoma espinocelular con el 16% y finalmente las lesiones precancerosas que representan el 10% (Gráfica 7).



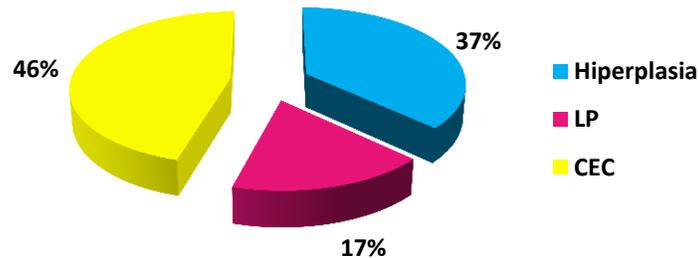
**Gráfica 7.** Porcentaje de lesiones presentadas en el grupo UV.

En el grupo vehículo/UV encontramos que los daños se distribuyen como 71% de CEC y 29% de hiperplasias, mientras que las lesiones precancerosas no se presentaron (Gráfica 8).



**Gráfica 8.** Porcentaje de lesiones presentadas en el tratamiento vehículo/UV.

Finalmente el diagnóstico histológico en el grupo tratado con verbascósido indica que el 46% de las neoplasias fueron diagnosticadas como CEC, 37% hiperplasias y 17% lesiones precancerosas.



**Gráfica 9.** Porcentaje de lesiones presentadas en el tratamiento con verbascósido.

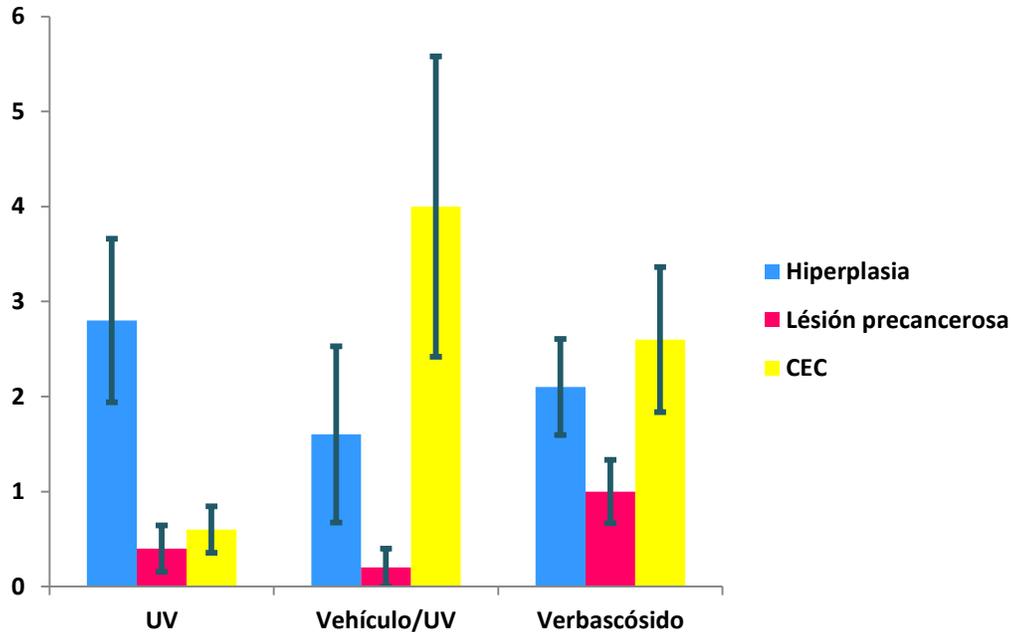
De acuerdo al análisis de varianza ( $p < 0.05$ ) realizado encontramos que no hay diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables, además el coeficiente de variación en los tres casos es muy alto, por consiguiente no podemos explicar el fenómeno con este modelo; no obstante el grupo vehículo/UV presentó el mayor número de CEC (cuadro 20) (Gráfica 6).

**Cuadro 20.** Análisis de varianza para el diagnóstico histopatológico.

Tratamientos	Hiperplasia	Lesión precancerosa	CEC
UV	2.8 a <sup>z</sup>	0.4 a <sup>z</sup>	0.6 a <sup>z</sup>
Vehículo/UV	1.6 a	0.2 a	4.0 a
Verbascósido	2.1 a	1.0 a	2.6 a
DMSH	2.6	1.24	3.6
CV (%)	83.5	129.2	100.7

<sup>z</sup> Valores con la misma letra en cada columna no son diferentes entre sí de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $p \leq 0.05$ .

**DMSH:** diferencia mínima significativa honesta; **CV:** coeficiente de variación.



**Gráfica 10.** Diagnóstico histológico que muestra el promedio de lesiones presentadas por individuo y por grupo.

En base a los resultados obtenidos en los diagnósticos macroscópico e histológico, el grupo que presentó un daño mayor fue el de vehículo/UV, por lo que la glicerina pudo haber sido el factor potenciador en la gravedad de estos daños. Se han realizado experimentos en los que se propone la presencia de acuaporinas en la piel de mamíferos capaces de transportar glicerol, lo cual es una determinante en la proliferación celular epidérmica y la tumorigénesis, donde el glicerol participa como un regulador de ATP, proporcionándole a las células tumorales una mayor cantidad de energía para su desarrollo [Verkman et al, 2008].

**Las acuaporinas (AQP's) son una familia** de pequeñas proteínas integrales que se localizan en las membranas plasmáticas de una variedad de células, donde funcionan como poros transportadores pasivos que responden a los gradientes osmóticos transmembrana, son hidrofóbicos y selectivos al agua, lo que facilita el transporte de esta en las células; además se encuentran tanto en plantas como en animales. En este sentido estudios en mamíferos han mostrado que estas acuaporinas se expresan en endotelios implicados en el transporte de líquidos, así como en células que se cree no llevan a cabo el transporte de fluidos, como la piel. **Dentro de este grupo de animales existen 13 AQP's identificadas (de la AQP-0 hasta la AQP-12)** y las cuales han sido divididas en dos grupos en base a su permeabilidad. **Las AQP's 1, 2, 4, 5 y 8 funcionan principalmente como transportadores selectivos de**



agua, mientras que las AQP's 3, 7, 9 y 10 también denominadas acuagliceroporinas transportan agua, glicerol y posiblemente otros solutos pequeños (Hara-Chikuma y Verkman, 2008; Verkman, 2005; Hara y Verkman 2003).

Las células tumorales en general, tienen un metabolismo elevado. Los cambios en el metabolismo celular se producen al comienzo del desarrollo de células tumorales, proporcionando un aumento de energía para el crecimiento celular y la formación de tumores. Se sugiere que el transporte de glicerol facilitado por la AQP3 en la epidermis promueve la proliferación celular y la tumorigénesis, donde el glicerol es un regulador clave de la energía celular. Por lo tanto se propone que el transporte del glicerol facilitado por la AQP3 tiene una importancia central en la generación de ATP, que facilita el crecimiento y la supervivencia de las células tumorales (Verkman *et al*, 2008).

Hara-Chikuma y Verkman (2008) encontraron una correlación positiva entre el contenido de ATP y el glicerol en AQP-3 en queratinocitos, lo que sugiere la participación de las AQP-3 en el transporte del glicerol y por ende la generación de ATP, además la proliferación celular está correlacionada con el contenido de ATP. Aunque el ATP es la fuente principal de energía en la epidermis, así como en la formación de tumores, las vías metabólicas detalladas de la producción o síntesis de ATP en la epidermis no se han establecido.

Por otra parte no se tienen antecedentes de la glicerina como posible carcinógeno, ya que a pesar de ser utilizado en la industria cosmética como base de algunas cremas y ungüentos para la piel, generalmente a estas sustancias sólo se les realizan pruebas de irritabilidad (como la prueba de parche) y sensibilidad (respuesta inmunológica), pero no se verifica si hay presencia de actividad carcinogénica [Yao-Ping *et al*, 2009]. En este sentido si comparamos únicamente los grupos vehículo/UV y verbascósido podemos decir que si existe una tendencia muy marcada en la disminución de los daños provocados por la RUV; por lo que se sugiere que este compuesto si presenta un efecto quimioprotector.

Chen y Han (2000), realizaron estudios con polifenoles de té verde y plantean diferentes hipótesis en la inhibición del cáncer entre las que destacan sus propiedades antioxidantes, la modulación de las funciones inmunes, inhibición de la expresión de oncogenes, la inhibición de la proliferación celular, entre otras. No obstante refieren que la formación del cáncer es un proceso muy complejo con múltiples fases y es muy probable que los efectos protectores de té y los compuestos presentes en él, están implicados en varios mecanismos relacionados entre sí y que al mismo tiempo son complementarios.



Específicamente el verbascósido puede actuar en diferentes niveles. Estudios previos han informado que varios glucósidos de fenilpropanoides tienen la propiedad de captación de radicales libres y proteger del estrés oxidativo por interacción directa con las ERO. Lo anterior se relaciona con el número de grupos hidroxilo que se encuentran en su estructura, así como su posición. El verbascósido presenta cuatro grupos hidroxilo fenólicos y cuanto mayor es el número de estos grupos, más fuerte es su actividad antioxidante, por lo tanto los antioxidantes pueden desempeñar un papel importante en la mejora o la prevención de daños en la piel por RUV [Pastorelli *et al*, 2012; Sheng *et al*, 2002; Fuchs *et al*, 1989].

Funes *et al*. (2009, 2010), mencionan que la actividad biológica de verbascósido podría estar relacionada con su capacidad para modular algunos procesos celulares dependientes de la membrana como la señalización celular y la funcionalidad mitocondrial, aunque la base molecular de éstos efectos aún no es clara. Además demostraron que el verbascósido inhibe la peroxidación lipídica de la membrana, lo cual puede estar relacionado con la capacidad de este compuesto para interactuar con la bicapa, lo que permite su localización en varias regiones de esta y asimismo actúa como un secuestrante de radicales en los alrededores de la misma.

Herbert *et al*. (1991) proponen que el modo de acción de este compuesto es como inhibidor de la proteína cinasa C (PKC). Se ha comprobado que éstas proteínas juegan un rol importante en la transducción de señales intracelulares, la apoptosis, la proliferación y la diferenciación celular, por lo tanto la actividad antitumoral del verbascósido podría ser debido al menos en parte a la inhibición de la PKC [García, 2003; Li *et al*, 1995]. Por otra parte Santoro *et al*. (2008) observaron en linfocitos humanos tratados con verbascósido una mejora en los niveles de expresión de PARP-1 y P53 que son proteínas reguladoras implicadas en la proliferación celular y reparación del ADN, sugieren que el ácido cafeico formado a partir de la hidrólisis de este compuesto puede ser el responsable de dicha actividad.

Es importante destacar que los estudios previamente descritos no se han realizado para daños ocasionados por RUV, igualmente las bases de los efectos del verbascósido no están completamente esclarecidas, sin embargo esta información nos puede dar una idea acerca del modo de acción de este compuesto ante el daño causado por RUV en la piel. Por lo tanto se requieren más estudios que nos ayuden a resolver éstas incógnitas.



# Conclusiones

- ▣ El verbascósido se aisló de la planta *Buddleja cordata* mediante cromatografía en columna abierta, presentando dos picos máximos de absorción en el **espectro ultravioleta de  $\lambda_{\text{max}}$  291 y 312 nm**, lo cual indica la autenticidad del compuesto.
- ▣ Los ratones SKH-1 mantuvieron un peso adecuado durante el desarrollo del experimento, teniendo un peso inicial promedio de 22.51 gr. y un peso final promedio de 30.08 gr.
- ▣ A nivel macroscópico el grupo que presentó un mayor daño por RUV-B fue el de vehículo-UV mientras que el grupo con menor daño fue el de Verbascósido/UV al tener una menor incidencia y multiplicidad de tumores.
- ▣ El promedio de neoplasias por ratón fue de 1.8 para el grupo UV, 3.6 para el tratamiento vehículo/UV y 2.1 para el lote tratado con verbascósido; no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos.
- ▣ El diámetro promedio de las neoplasias fue mayor en el grupo vehículo/UV con un diámetro de 4.4 cm, seguido por el grupo UV con 3.3 cm y finalmente el tratamiento con verbascósido con 2.9 cm, presentando diferencias significativas entre los grupos vehículo/UV y verbascósido. Las neoplasias son de diámetro menor en los ratones irradiados y tratados con verbascósido.
- ▣ El diagnóstico histopatológico mostró que el grupo con mayor daño fue el de vehículo/UV al presentar el mayor número de CEC, seguido por el tratado con verbascósido y el menos dañado el grupo UV, el cual solo mostró hiperplasia y lesiones precancerosas.
- ▣ Por lo tanto podemos decir que el verbascósido presentó una actividad fotoprotectora relativa en piel de ratones SKH-1 expuestos a RUV, el efecto fotoquimioprotector no es concluyente.



## Perspectivas

Realizar un nuevo experimento utilizando otro vehículo, además de evaluar si existe una acción sinérgica entre el verbascósido y otros compuestos como la linarina aplicados simultáneamente. Finalmente se pretende hacer una evaluación del extracto metanólico de *Buddleja cordata* para determinar si el conjunto de compuestos presentes en dicho extracto presentan una mayor actividad fotoprotectora frente a la RUV.



# *Anexos*





## 11.1. *Buddleja cordata* Kunth ssp. *cordata*

### Sinonimia popular

Palo de zorro prieto, tepozán grande, tepozán, zompantle [Gallardo-Vázquez, 1994].

### Botánica

*Buddleja cordata* es un arbusto o árbol pequeño de 1 a 10 m de altura. Sus hojas miden de 10 a 15cm de largo, tienen un soporte largo, son anchas en la base y terminadas en punta. La hoja es de color verde en el haz, el envés con abundantes pelos que lo hacen ver blanquecino. Sus flores son aromáticas y de color amarillo (Figura 47) [Gallardo-Vázquez, 1994].

### Ecología

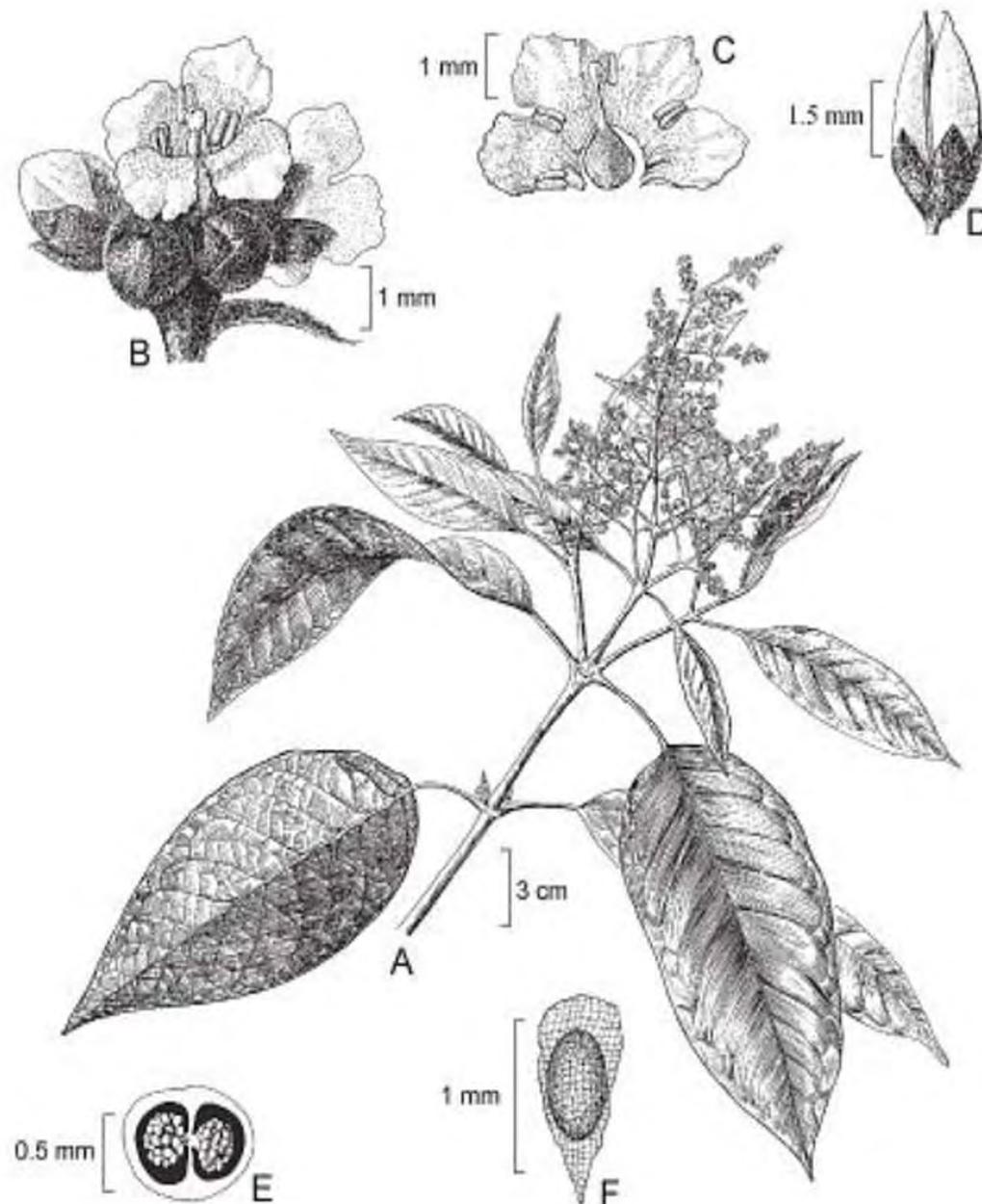
Esta planta se distribuye desde el norte de México hasta Guatemala en altitudes que van de los 1500 a los 3000 m.s.n.m., crece en bosques de Quercus, de coníferas y mesófilo de montaña, pero preferentemente se desarrolla en la vegetación secundaria y en lugares intensamente perturbados, incluyendo zonas urbanas. Tolera condiciones de sequía, por lo que también se encuentra en matorrales xerófilos y en suelos erosionados (Figura 48) [Rzedowski y Rzedowski, 2005; Norman, 2000; Gallardo-Vázquez, 1994].

### Etnobotánica y antropología

Las ramas cocidas son usadas en varios estados del centro del país, para dar baños a las mujeres que acaban de dar a luz y así evitarles el resfrío. Además, con la cocción de las hojas se hacen lavados o se aplican cataplasmas en lesiones de la piel como heridas, llagas, úlceras o para madurar abscesos y granos. Las hojas calentadas sobre cenizas se aplican calientes sobre heridas o magullones, o bien, se prepara la planta con grasa de cerdo o sebo para usarla como ungüento. Cuando hay fiebre se colocan las hojas con carbonato como plantillas en los pies, o se machacan y revuelven con manteca y se ponen sobre el estómago, hasta que la temperatura baje a lo normal. Las hojas picadas (con una escobeta) y cubiertas con manteca y carbonato se utilizan a manera de emplasto contra el dolor de estómago y para niños con diarrea. También se le usa en caso de infecciones y calor de estómago. En afecciones renales se le emplea como diurético, en este caso se bebe el cocimiento de la corteza [Gallardo-Vázquez, 1994].

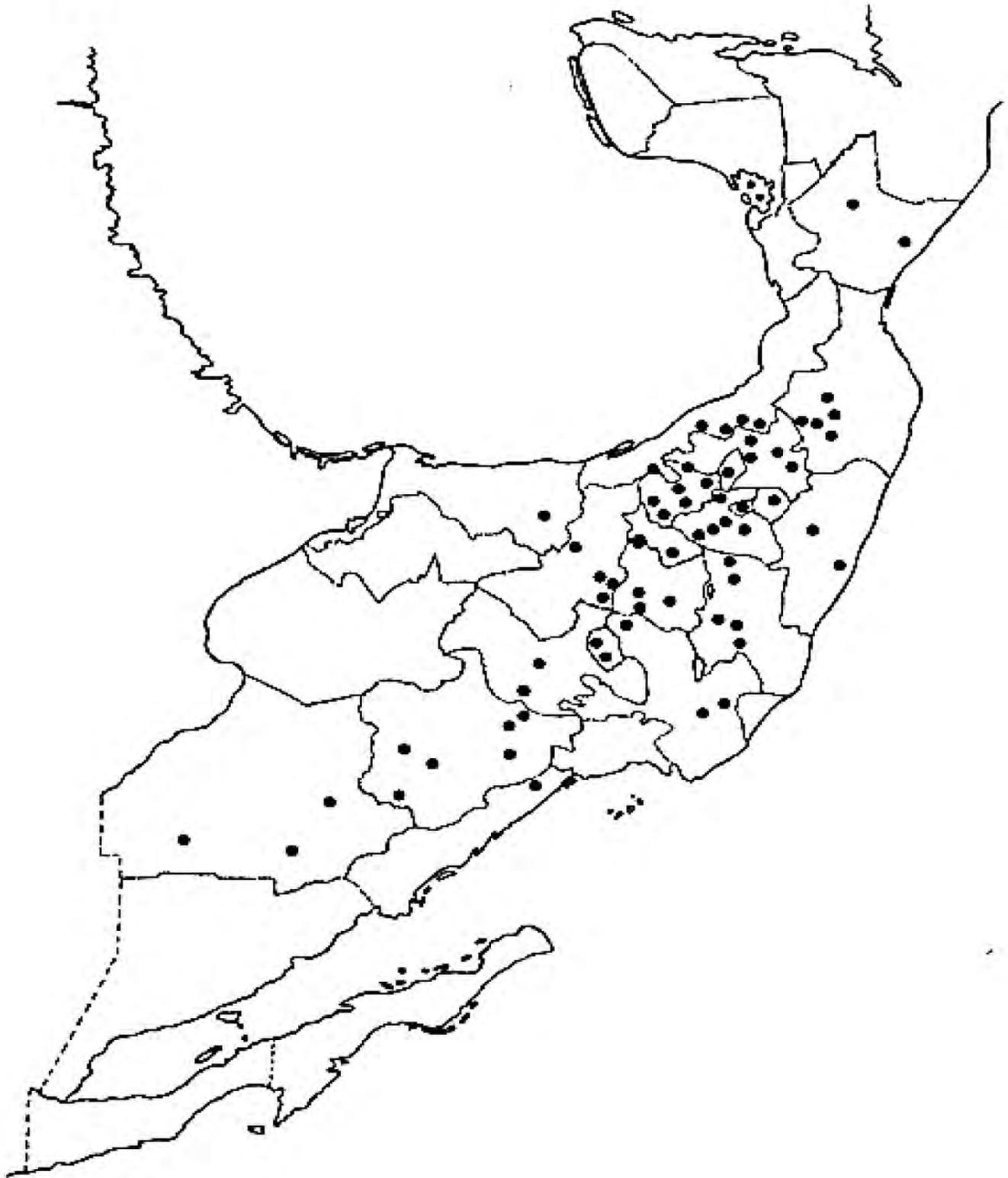


Otros usos referidos son: para el dolor de cintura y de cabeza, mordedura de víbora, reumas, tos, diabetes, hemorragia nasal, calambres, cáncer, hidropesía y como desinfectante de trastes. En Hidalgo hacen la recomendación de que no se utilice en los casos de tos cuando es por calor, pues aumenta la enfermedad. Además se señala que su empleo es delicado [Gallardo-Vázquez, 1994].



**Figura 31.** Morfología de *Buddleja cordata* H.B.K. ssp. *cordata*: A. Rama con inflorescencia; B. Aspecto de un grupo de botones y dos flores; C. Flor disecada; D. Fruto maduro; E. Corte transversal de ovario; F. Semilla.

**Fuente:** Rzedowski y Rzedowski, 2005.



**Figura 32.** Distribución geográfica en México de *Buddleja cordata* ssp. *cordata*.  
**Fuente:** Romero *et al.*, 2003.



## 11.2. TÉCNICA HISTOLÓGICA

(Modificado de: Vilorio 1999; Sobotta 1995; García 1993; Paulsen 1991; Cormack 1986)

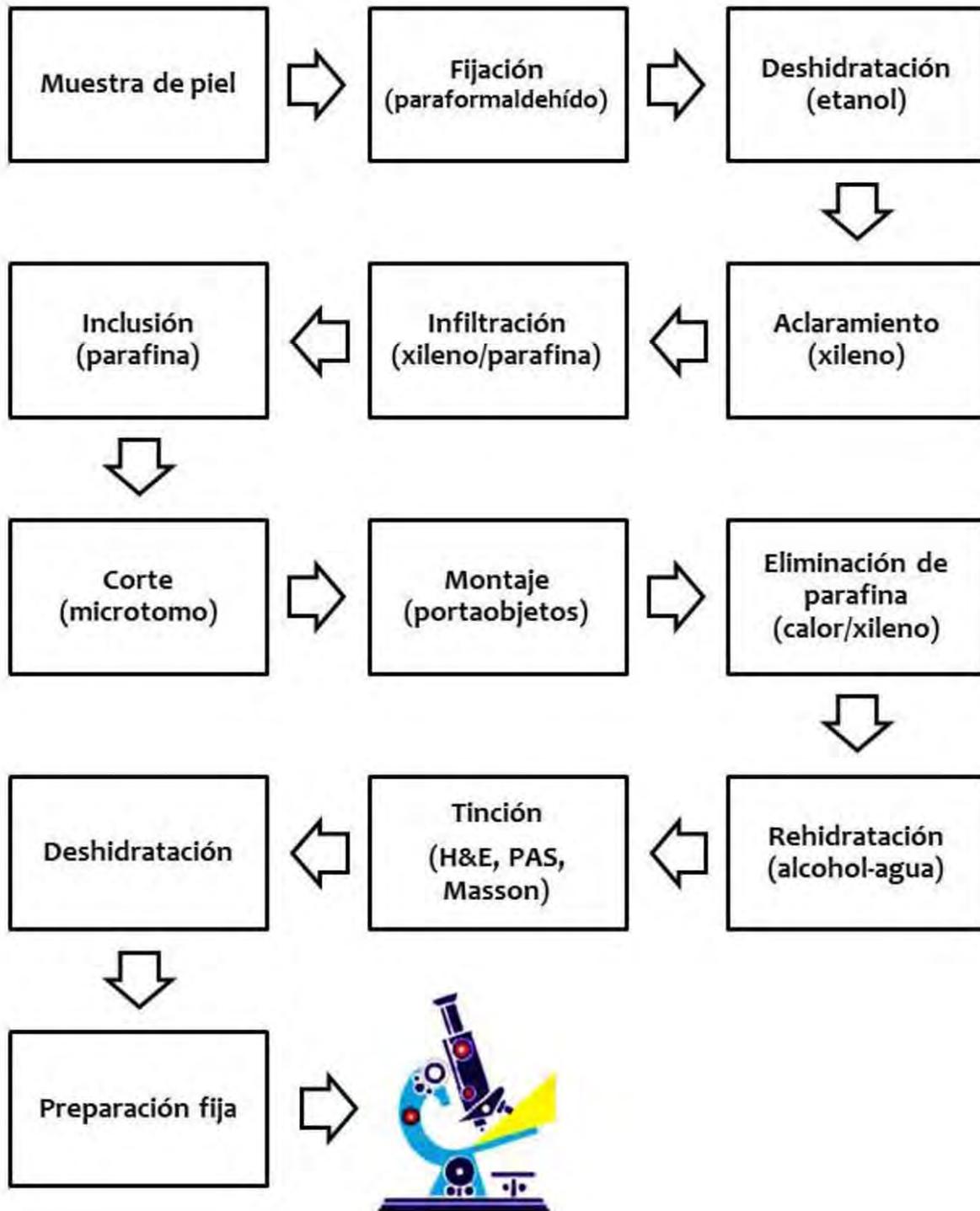


Figura 33. Diagrama de flujo de la técnica histológica.



## Inclusión en parafina

La técnica estándar de inclusión en parafina comprende los siguientes pasos:

1. Tomar una pequeña muestra del tejido a estudiar mediante biopsia, resección quirúrgica o post-mortem.
2. Fijar la muestra con paraformaldehído al 2% disuelto en PBS a un pH de 7 durante un lapso que puede ser desde unas horas hasta varios días dependiendo del tamaño de la muestra.
3. Lavar la muestra con agua corriente.
4. Deshidratar el tejido fijado con alcohol etílico de menor a mayor concentración (70%, 80%, 90%, 96% y 100%) durante dos horas en cada una.
5. Aclarar el tejido utilizando xileno, efectuando dos procesos de cinco minutos cada uno.
6. A continuación se realizan tres baños en parafina fundida durante dos horas cada uno.
7. En un molde que contenga parafina fundida, depositar un fragmento de tejido utilizando pinzas y presionando en una de las paredes del molde para fijarlo, enseguida se coloca la etiqueta en lado opuesto a la muestra y se termina de llenar completamente el molde con parafina.
8. Dejar solidificar a temperatura ambiente y retirar del molde.

## Corte en microtomo

Después de la inclusión en parafina se efectúan los cortes utilizando un micrótopo, de acuerdo al siguiente procedimiento:

1. Fijar los bloques de parafina en el microtomo.
2. **Cortar hasta 20  $\mu\text{m}$ , eliminando el exceso de parafina.**
3. **Calibrar el micrótopo para realizar cortes de 3 a 6  $\mu\text{m}$  de grosor.**
4. Ya realizados los cortes, colocarlos en baño de flotación y enseguida ponerlos en portaobjetos.
5. Marcar las laminillas con un lápiz de diamante.
6. Secarlos y colocarlos en la estufa para eliminar la parafina y fijar los cortes en las laminillas.

## Tinción hematoxilina y eosina

1. Colocar los cortes fijados en las laminillas en la canastilla de tinción.
2. Introducir las muestras en xileno I y II para eliminar el exceso de parafina.



3. Introducir las muestras en alcohol absoluto para retirar el xileno.
4. Hidratar las muestras pasando por alcohol etílico de mayor a menor concentración (96%, 90%, 80%, 70%) y finalmente sumergir en agua durante dos minutos en cada una.
5. Teñir con hematoxilina de Harris durante cinco minutos.
6. Lavar con agua corriente.
7. Decolorar con alcohol ácido, con 2 o 3 inmersiones rápidas, para eliminar el excedente de colorante.
8. Lavar con agua rápidamente.
9. Virar en agua amoniacal al 1%.
10. Enjuagar con agua corriente.
11. Sumergir en alcohol al 96% durante 2 minutos.
12. Teñir con eosina alcohólica por un minuto.
13. Deshidratar con alcohol etílico de menor a mayor concentración (70%, 80%, 90%, 96% y 100%).
14. Sumergir en xileno de salida I y II durante 5 minutos en cada uno.

### **Resultados:**

Núcleos	Azul
Citoplasma	Rosa
Fibras musculares	Rosa intenso
Eritrocitos	Rosa

### **Tinción de Masson**

1. Colocar los cortes fijados en la canastilla de tinción.
2. Introducir las muestras en xileno I y II para eliminar el exceso de parafina.
3. Introducir las muestras en alcohol absoluto para retirar el xileno.
4. Hidratar las muestras pasando por alcohol etílico de mayor a menor concentración (96%, 90%, 80%, 70%) y finalmente sumergir en agua durante dos minutos en cada una.
5. Mordentar en solución de bouin por 1 hora.
6. Lavar con agua corriente hasta eliminar el color amarillo.
7. Enjuagar con agua destilada.
8. Teñir con hematoxilina de Weigert durante 10 minutos.
9. Enjuagar con agua destilada.
10. Teñir con solución de escarlata de Biebrich-fucsina ácida durante 7 minutos.
11. Enjuagar con agua destilada.



12. Poner en solución de ácido fosfotúngstico por 15 minutos.
13. Enjuagar con agua destilada.
14. Teñir con azul de anilina o verde luz por 5 minutos.
15. Enjuagar con agua destilada.
16. Colocar en solución de ácido acético al 1% durante 1 minuto.
17. Enjuagar con agua destilada.
18. Deshidratar con alcohol etílico de menor a mayor concentración (70%, 80%, 90%, 96% y 100%).
19. Sumergir en xileno de salida I y II durante 5 minutos.

### **Resultados:**

Núcleos	Negros
Fibras Musculares	Rojo
Colágena	Azul
Eritrocitos	Rojo brillante

### **Tinción de PAS**

1. Colocar los cortes fijados en la canastilla de tinción.
2. Introducir las muestras en xileno I y II para eliminar el exceso de parafina.
3. Introducir las muestras en alcohol absoluto para retirar el xileno.
4. Hidratar las muestras pasando por alcohol etílico de mayor a menor concentración (96%, 90%, 80%, 70%) y finalmente en agua, sumergir durante dos minutos en cada una.
5. Oxidar en ácido peryódico al 0.5% durante 15 minutos.
6. Enjuagar con agua destilada.
7. Colocar en reactivo de Schiff durante 20 o 30 minutos.
8. Lavar al chorro de agua corriente hasta que aparezca un color rosa en el tejido.
9. Teñir en hematoxilina de Harris por 6 minutos.
10. Lavar con agua corriente.
11. Dar un baño rápido en alcohol ácido al 1%.
12. Enjuagar en agua corriente.
13. Virar en agua amoniacal al 1%.
14. Enjuagar con agua corriente.
15. Deshidratar con alcohol etílico de menor a mayor concentración (70%, 80%, 90%, 96% y 100%).
16. Sumergir en xileno de salida I y II durante 5 minutos.



### **Resultados:**

Núcleos                      Azul  
Mucopolisacaridos      Rosa púrpura

### **Montaje**

1. Limpiar perfectamente las laminillas por la parte opuesta al corte.
2. Colocar una gota de resina sintética (entellan) sobre el corte.
3. Colocar un cubreobjetos apropiado al tamaño del corte, presionando suavemente para eliminar el exceso de resina y dejar secar a la intemperie.
4. Etiquetar y guardar las laminillas para uso posterior.

## **SOLUCIONES**

### **Ácido acético glacial al 1%**

Ácido acético glacial ..... 1 ml.  
H<sub>2</sub>O destilada ..... 99 ml.

### **Ácido fosfotúngstico y fosfomolibdico**

Ácido fosfotungstico ..... 5 gr.  
Ácido fosfomolibdico ..... 5 gr.  
H<sub>2</sub>O destilada ..... 200 ml.

### **Ácido peryódico al 0.5%**

Ácido peryódico ..... 0.5 gr.  
H<sub>2</sub>O destilada ..... 100 ml.

### **Agua amoniacal al 1%**

H<sub>2</sub>O destilada ..... 99 ml.  
NH<sub>4</sub>OH ..... 1 ml.

### **Alcohol ácido al 1%**

Alcohol al 70% ..... 99 ml.  
HCl ..... 1 ml.

**Azul de anilina**

Azul de anilina .....	2.5 gr.
Ácido acético glacial .....	2 ml.
H <sub>2</sub> O destilada.....	100 ml.

**Bouin**

Solución saturada de ácido pícrico.....	75 ml.
Formaldehído 37-40%.....	25 ml.
Ácido acético glacial .....	5 ml.

**Eosina alcohólica**

Eosina .....	1.25 gr.
H <sub>2</sub> O destilada.....	150 ml.
Alcohol absoluto .....	350 ml.
Ácido acético glacial .....	5 ml.

Se disuelve la eosina en el agua destilada, enseguida se le agrega el alcohol, se agita y finalmente se le añade el ácido acético. La solución puede ser usada inmediatamente.

**Escarlata de Biebrich-fucsina ácida**

Escarlata de Biebrich en solución acuosa al 1% .....	90 ml.
Fucsina ácida en solución acuosa al 1% .....	9 ml.
Ácido acético glacial .....	1 ml.

**Hematoxilina de Harris**

Cristales de hematoxilina.....	1 gr.
Alcohol etílico absoluto.....	10 ml.
Alumbre potásico o amónico.....	20 gr.
Óxido rojo de mercurio.....	0.5 gr.
Llevar con H <sub>2</sub> O destilada a.....	200 ml.
Ácido acético glacial .....	10 ml.



Disolver la hematoxilina en el alcohol etílico, por otra parte se disuelven en caliente el agua junto con el alumbre potásico. Posteriormente se añade la solución de hematoxilina y se lleva a ebullición (máximo un minuto), enseguida se le agrega el óxido rojo de mercurio removiendo lentamente hasta que la solución adquiera color púrpura. Sumergir inmediatamente en agua fría y cuando la solución se haya enfriado se filtra y se le añade el ácido acético glacial.

### **Hematoxilina de Weigert**

Solución A

Cristales de hematoxilina ..... 1 gr.  
Alcohol etílico al 96% ..... 100 ml.

Solución B

Solución acuosa de  $\text{FeCl}_3$  al 29% ..... 4 ml.  
 $\text{H}_2\text{O}$  destilada ..... 95 ml.  
  
HCl concentrado ..... 1 ml.

Se combinan en partes iguales las dos soluciones y se pueden utilizar de inmediato.

### **Paraformaldehído al 2%**

Paraformaldehído ..... 2 gr.  
PBS ..... 100 ml.

Para que se disuelva hay que ponerlo a baño maría a  $60^\circ\text{C}$  ó en agitador magnético con calor y agregar NaOH. En lugar de PBS puede usarse Buffer fosfato.

### **PBS**

NaCl ..... 8 gr.  
KCl ..... 0.2 gr.  
 $\text{Na}_2\text{PO}_4$  ..... 1.14 gr.  
 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ..... 0.2 gr.  
Agua destilada ..... 1 lt.

pH 7.2



### **Reactivo de Schiff**

Fucsina básica .....	1 gr.
H <sub>2</sub> O destilada.....	200 ml.
Metabisulfito de sodio .....	2 gr.
HCl concentrado .....	20 ml.
Carbón activado.....	2 gr.

Llevar hasta ebullición el agua destilada y añadir la fucsina, se disuelve y enfriar a 50 C. La mezcla debe tomar un color magenta oscuro. Posteriormente se le agrega el metasulfito de sodio y se mezcla bien, enfriar a temperatura ambiente y agregar los 2 ml de HCl concentrado, enseguida se agita la mezcla hasta disolver los reactivos, se agrega el carbón activado y mantener en la oscuridad durante 24 horas. Filtrar la solución la cual debe ser completamente clara o amarillo pálido. La solución se conserva a 4 C.

### **Verde luz**

Verde luz.....	2 gr.
H <sub>2</sub> O destilada.....	99 ml.
Ácido acético glacial .....	1 ml.



### 11.3. DAÑOS EN PIEL DE RATONES SKH-1

En el siguiente cuadro se describe de forma resumida los daños encontrados en las muestras de piel de los ratones SKH-1 por tratamiento, así como el grado y la extensión de los mismos:

**Cuadro 21.** Resumen de los daños presentados en los grupos experimentales.

TIPO DE DAÑO	Testigo	Vehículo	UV	Vehículo/UV	Verbascósido
<b>Paraqueratosis</b>			Severo difuso	Severo multifocal	Leve focal
<b>Hiperqueratosis</b>			Severo difuso	Severo multifocal	Moderado multifocal
<b>Disqueratosis</b>			Severo multifocal	Severo multifocal	
<b>Espongiosis</b>			Moderado multifocal	Moderado multifocal	Moderado multifocal
<b>Células de quemadura</b>			Moderado difuso	Moderado difuso	Moderado multifocal
<b>Atrofia</b>					Leve difuso
<b>Hiperplasia</b>		Leve focal	Severo multifocal	Moderado difuso	Moderado multifocal
<b>Hipertrofia</b>			Moderado multifocal	Severo Difuso	Moderado multifocal
<b>Displasia</b>				Severo difuso	
<b>Acantosis</b>				Moderado difuso	Moderado difuso
<b>Pleomorfismo celular</b>			Severo difuso	Severo difuso	Severo focal
<b>Edema</b>	Leve focal	Leve focal	Moderado difuso	Severo difuso	Severo multifocal
<b>Congestión de vasos</b>			Severo multifocal	Severo difuso	Severo focal
<b>Hemorragia</b>				Leve focal	
<b>Infiltrados inflamatorios</b>	Leve multifocal	Leve focal	Moderado difuso	Severo difuso	Moderado difuso



# *Referencias*





Adhami V.M., Syed D.N., Khan N., Afaq F. 2008. Phytochemicals for prevention of solar ultraviolet radiation-induced damages. *Photochemistry and Photobiology*, 84: 489–500.

Afaq F., Syed D.N., Malik A., Hadi N., Sarfaraz S., Kweon M.H., Khan N., Zaid M.Z., Mukhtar H. 2007. Delphinidin, an anthocyanidin in pigmented fruits and vegetables, protects human HaCaT keratinocytes and mouse skin against UVB-mediated oxidative stress and apoptosis. *Journal of Investigative Dermatology*, 127: 222–232.

Afaq F., Mukhtar H. 2006. Botanical antioxidants in the prevention of photocarcinogenesis and photoaging. *Experimental Dermatology*, 15: 678–684.

Afaq F., Adhami V.M., Mukhtar H. 2005. Photochemoprevention of ultraviolet B signaling and photocarcinogenesis. *Mutation Research*, 571: 153-173.

**Ahmad N., Gilliam A.C., Katiyar S.K., O'Brien T.G., Mukhtar H. 2001. A definitive role of ornithine decarboxylase in photocarcinogenesis. *American Journal of Pathology*, 159(3): 885-892.**

Alonso-Lebrero J.L., Domínguez-Jiménez C., Tejedor R., Brieva A., Pivel J.P. 2003. Photoprotective properties of a hydrophilic extract of the fern *Polypodium leucotomos* on human skin cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 70: 31–37.

Amado S. 2001. Lecciones de dermatología. 14ª Edición. Méndez Editores. México. 630-679 pp.

Arenas R. 2009. Atlas de dermatología: diagnóstico y tratamiento. 3ª Edición. Mc Graw Hill Interamericana. México. 416 p.

Avila Acevedo J.G., Castañeda C.M., Benítez F.J., Durán D.A., Barroso V.R., Martínez C.G., Muñoz L.J.L., Martínez C.A., Romo de Vivar A. 2005. Photoprotective activity of *Buddleja scordioides*. *Fitoterapia*, 76 (3-4): 301-309.

Avila A.J.G. 2002. Estudio fitoquímico de *Buddleja perfoliata* y *Buddleja scordioides*. Evaluación de la actividad antibacteriana y fotoprotectora de sus principales metabolitos secundarios. Tesis de Doctorado. Facultad de Química, UNAM. México. 208 p.

Bair W.B., Hart N., Einspahr J., Liu G., Dong Z., Alberts D., Bowden T. 2002. Inhibitory effects of sodium salicylate and acetylsalicylic acid on UVB-induced mouse skin carcinogenesis. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 11: 1645-1652.



BDMTM, Biblioteca digital de la medicina tradicional Mexicana.

Fecha de consulta: 22 de julio de 2011.

Fuente: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/index.php>.

Bissett L.D., Hannon P.D., Orr V.T. 1987. An animal model of solar-aged skin: histological, physical, and visible changes in UV-irradiated hairless mouse skin. *Photochemistry and Photobiology*, 46 (3): 367-378.

Cachón-González B.M., Fenner S., Coffin M.J., Moran C., Best S., Stoye P.J. 1994. Structure and expression of the hairless gene of mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 91: 7717-7721.

Campos M.P., Gianeti M.D., Kanashiro A., Lucisano-Valim Y.M., Gaspar L.R. 2006. *In vitro* antioxidant and *in vivo* photoprotective effects of an association of bioflavonoids with liposoluble vitamins. *Photochemistry and Photobiology*, 82: 683-688.

Cancino R.M. 1998. Efectos de la radiación solar y filtros solares sobre la piel. Tesis de Licenciatura, Químico Farmacéutico Biólogo. Facultad de Química, UNAM. México. 98 p.

Cano G.A., Gómez G.F., Álvarez S.N., Sánchez-Pedreño G.P., Vicente O.V. 2010. Modelo de fotocarcinogénesis cutánea en ratones SKH-1 por radiación ultravioleta. *Revista Española de Patología* 43(4): 191-195.

Carucci J.A., Leffell D.J. 2009. Carcinoma basocelular. En: Wolf K., Goldsmith A.L., Katz I.S., Gilchrist A.B., Paller S.A., Leffell J.D. (Eds). *Fitzpatrick, Dermatología en Medicina General*. Tomo I. 7ª Edición. Medica Panamericana. España. Pag: 1037-1042.

Chen J., Han C. 2000. The protective effect of tea on cancer: human evidence. En: Bidlack R.W., Omaye T.S., Meskin S.M., Topham W.D.K. (Eds). *Phytochemicals as bioactive agents*. Technomic Publishing Co. Inc. Estados Unidos. 131-149 pp.

Chia-Chung H., Yi-Ping C., Jyh-Horng W. 2007. A galactolipid possesses novel cancer chemopreventive effects by suppressing inflammatory mediators and mouse B16 melanoma. *Cancer Research*, 67: 6907-6915.

Chilampalli C., Guillermo R., Zhang X., Kaushik R., Young A., Zeman D., Hildreth M., Fahmy H., Dwivedi C. 2011. Effects of magnolol on UVB-induced skin cancer development in mice and its possible mechanism of action. *BMC Cancer*, 11: 456-473.



Chu D.H. 2009. Desarrollo y estructura de la piel. En: Wolf K., Goldsmith A.L., Katz I.S., Gilchrist A.B., Paller S.A., Leffell J.D. (Eds). Fitzpatrick, Dermatología en Medicina General. Tomo I. 7ª Edición. Medica Panamericana. España. 57-72 pp.

Chu D.H., Haake A.R., Holbrook K., Loomis C.A. 2005. Estructura y desarrollo de la piel. En: Freedberg I., Eisen A., Wolf K., Austen F.K., Goldsmith A.L., Katz I.S. (Eds). Fitzpatrick, Dermatología en Medicina General. Tomo I. 6ª Edición. Medica Panamericana. España. 64-131 pp.

Cooper S.J., MacGowan J., Ranger-Moore J., Young M.R., Colburn N.H., Bowden G.T. 2003. Expression of dominant negative c-jun inhibits ultraviolet B-induced squamous cell carcinoma number and size in an SKH-1 hairless mouse model. *Molecular Cancer Research*, 1: 848–854.

Cormack D.H. 1986. Fundamentos de histología. Editorial Harla. México. 3-4 pp.

**D'Agostini F., Balansky R.M., Camoirano A., De Flora S. 2005.** Modulation of light-induced skin tumors by N-acetylcysteine and/or ascorbic acid in hairless mice. *Carcinogenesis* 26 (3): 657-664.

Dans M., Fakharzadeh S. 2006. Bases genéticas del cáncer de piel. En: Rigel S.D., Friedman R.J., Dzubow M.L., Reintgen S.D., Bystry J., Marks R. (Eds). *Cáncer de piel*. Elsevier Saunders. España. 15-28 pp.

De la Rosa A.M.A. 2005. La luz en biología, aplicaciones de interés industrial y agrícola. Universidad de Sevilla, Focus-Abengoa. España. 29-35 pp.

Dearborn F.M. 2005. Enfermedades de la piel. B. Jain Publishers Ltd. Nueva Delhi, India, 1.

DHSSPS, Report on Skin Cancer. Regional Advisory Committee on Cancer. Department of Health, Social Services and Public Safety.

Fecha de consulta: 22 de julio de 2011.

Fuente: <http://www.dhsspsni.gov.uk/dhs-54107-skin-cancer.pdf>.

Dinkova-Kostova A.T., Fahey J.W., Jenkins S.N., Wehage S.L., Talalay P. 2008. Rapid body weight gain increases the risk of ultraviolet radiation-induced skin carcinogenesis in SKH-1 hairless mice. *Nutrition Research*, 28(8): 539–543.

Dorneles M.J., Augusti B.A., Mansur M.M., Borba S.T., Hartz A.S., Canto-Dorow T., Linde A.M. 2009. In vitro antimicrobial and antioxidant activities of a crude extract and fractions from *Buddleja thyrsoides* Lam. Leaves. *Quimica Nova*, 32(2): 277-281.



Duncan O.K., Geisse K.J., Leffell J.D. 2009. Lesiones epiteliales precancerosas. En: Wolf K., Goldsmith A.L., Katz I.S., Gilchrest A.B., Paller S.A., Leffell J.D. (Eds). Fitzpatrick, Dermatología en Medicina General. Tomo 2. 7ª Edición. Medica Panamericana. España. 1007-1027 pp.

**Duro M.E., Campillo P.M.T., Causín S.S. 2003. Hablemos de... Radiación solar: El sol y los filtros solares. MEDIFAM, 13(3): 159-165.**

Elmets A.C. 1991. Cutaneous photocarcinogenesis. En: Mukhtar H. (Ed). Pharmacology of the skin. CRC Press. Florida. 390-407 pp.

Escobedo H.A.M. 2007. Estudio epidemiológico descriptivo del cáncer de piel melanoma y no melanoma (carcinoma basocelular y epidermoide) en el C. M. N. 20 de Noviembre de 2001-2005. Tesis de Especialidad en Dermatología. Facultad de Medicina, UNAM. México. 24p.

Esposito E., Dal Toso R., Pressi G., Bramanti P., Meli R., Cuzzocrea S. 2010. Protective effect of verbascoside in activated C6 glioma cells: possible molecular mechanisms. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, **381: 93–105.**

Estrada-Zúñiga M.E., Cruz-Sosa F., Rodríguez-Monroy M., Verde-Calvo J.R., Vernon-Carter E.J. 2009. Phenylpropanoid production in callus and cell suspension cultures of *Buddleja cordata* Kunth. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, **97:39–47.**

Falabella F.R., Escobar E.C., Barona C.M.I. 2002. Estructura y funciones de la piel. En: Falabella F.R., Victoria C.J., Barona C.M.I., Domínguez S.L. (Eds). Dermatología, Fundamentos de Medicina. 6ª Edición. Corporación para investigaciones biológicas. Colombia. 2-22 pp.

Fuchs J., Huflejt M.E., Rothfuss L.M., Wilson D.S., Carcamo G., Packer L. 1989. Acute effects of near ultraviolet and visible light on the cutaneous antioxidant defense system. *Photochemistry and Photobiology*, **50 (6): 739-744.**

Fuentes R.C.A. 2011. Efecto protector del verbascósido sobre el daño inducido en la piel por luz ultravioleta de ratones SKH-1. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. México. 53 p.

Funes L., Fernández-Arroyo S., Laporta O., Pons A., Roche E., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A., Micol V. 2009. Correlation between plasma antioxidant capacity and verbascoside levels in rats after oral administration of lemon verbena extract. *Food Chemistry*, **14: 589–598.**



Funes L., Laporta O., Cerdán-Calero M., Micol V. 2010. Effects of verbascoside, a phenylpropanoid glycoside from lemon verbena, on phospholipid model membranes. *Chemistry and Physics of Lipids*, 163: 190–199.

Gallagher C.H., Path F.R.C., Canfield P.J., Greenoak G.E., Reeve V.E. 1984. Characterization and histogenesis of tumors in the hairless mouse produced by low-dosage incremental ultraviolet radiation. *The Journal of Investigative Dermatology*, 83: 169-174.

Gallardo-Vázquez A. C. 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional Mexicana III. Instituto Nacional Indigenista. México. 1331-1332 pp.

García-Bores A.M., Avila J.G. 2008. Natural products: Molecular mechanisms in the photochemoprevention of skin cancer. *Revista Latinoamericana de Química*, 36: 3.

García del Moral R. 1993. Laboratorio de anatomía patológica. Interamericana McGraw Hill. México. 670 p.

García G.E. 2003. Muerte neuronal excitotóxica: interacción entre las rutas de señalización del IGF-I y el glutamato. Tesis de Doctorado. Universidad Complutense de Madrid. España. 24-26 pp.

Glaser D.A., Waldorf H.A. 2006. Protectores solares. En: Draérlós Z.D. (Ed). *Cosmeceúticos*. Elsevier sounders. España. 139-147 pp.

González-Maglio D.H., Paz M.L., Ferrari A., Weill F.S., Nieto J., Leoni J. 2010. Alterations in skin immune response throughout chronic UVB irradiation skin cancer development and prevention by naproxen. *Photochemistry and Photobiology*, 86: 146–152.

Grossman D., Leffell D.J. 2009. Carcinoma espinocelular. En: Wolf K., Goldsmith A.L., Katz I.S., Gilchrist A.B., Paller S.A., Leffell J.D. (Eds). *Fitzpatrick, Dermatología en Medicina General*. Tomo I. 7ª Edición. Medica Panamericana. España. 1028-1036 pp.

Gruijl F.R. 1999. Skin cancer and solar UV radiation. *European Journal of Cancer*, 35(14): 2003-2009.

Gu M., Singh R.P., Dhanalakshmi S., Agarwal C., Agarwal R. 2007. Silibinin inhibits inflammatory and angiogenic attributes in photocarcinogenesis in SKH-1 hairless mice. *Cancer Research*, 67(7): 3483-3491.



Gu M., Singh R.P., Dhanalakshmi S., Mohan S., Agarwal R. 2006. Differential effect of silibinin on E2F transcription factors and associated biological events in chronically UVB-exposed skin versus tumors in SKH-1 hairless mice. *Molecular Cancer Therapeutics*, 5(8): 2121-2129.

Gutiérrez V.R.M. 2003. Cáncer de piel. *Revista de la Facultad de Medicina, UNAM*, 46(4): 166-171.

Hara M., Verkman A.S. 2003. Glycerol replacement corrects defective skin hydration, elasticity, and barrier function in aquaporin-3-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 100(12): 7360-7365.

Hara-Chikuma M., Verkman A.S. 2008. Prevention of Skin tumorigenesis and impairment of epidermal cell proliferation by targeted aquaporin-3 gene disruption. *Molecular and Cellular Biology*, 28(1): 326-332.

Hasan AM., Reagan-Shaw S., Wu J., Longley B.J., Ahmad N. 2005. Chemoprevention of skin cancer by grape constituent resveratrol: relevance to human disease. *The FASEB Journal*, 1-18.

Herbert J.M., Maffrand J.P., Taoubi K., Augereau J.M., Fouraste I., Gleye J. 1991. Verbascoside isolated from *Lantana camara*, an inhibitor of protein kinase C. *Journal of Natural Products*, 54(6): 1595-1600.

Herrera C.E. 2001. Tumores malignos epiteliales, carcinomas basocelulares y carcinomas espinocelulares. En: Rodón L.J.A. (Ed). *Temas dermatológicos: Pautas diagnósticas y terapéuticas*. Tipografía Olympia, C. A. Venezuela. 312-332 pp.

IPCS, International Programme on Chemical Safety.

Fecha de consulta: 27 julio 2012.

<http://www.inchem.org/documents/sids/sids/56815.pdf>.

Issa A.Y., Volate S.R., Wargovich M.J. 2006. The role of phytochemicals in inhibition of cancer and inflammation: New directions and perspectives. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(5): 405-419.

Jeanmougin M. 2004. El sol. En: Avril M.F., Brodin M., Dréno B., Dréno P., Gotman A., Jeanmougin M., Le Maître M., Mischlich., Reuter G. (Eds). *Sol y piel. Beneficios, riesgos y prevención*. Editorial Masson. España. 8-15 pp.

Katiyar S.K. 2008. Grape seed proanthocyanidines and skin cancer prevention: Inhibition of oxidative stress and protection of immune system. *Molecular Nutrition and Food Research*, 52(1): 71–76.



Kawasumi M., Lemos B., Bradner E.J., Thibodeau R., Kim Y., Schmidt M., Higgins E., Koo S., Angle-Zahn A., Chen A., Levine D., Nguyen L., Heffernan P.T., Longo I., Mandinova A., Lu Y., Conney A.H., Nghiem P. 2011. Protection from UV-induced skin carcinogenesis by genetic inhibition of the ataxia telangiectasia and Rad3-related (ATR) kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 108 (33): 13716-13721.

Kemp J.C. 2005. Multistep skin cancer in mice as a model to study the evolution of cancer cells. *Seminars in Cancer Biology*, 15: 460–473.

Kligman H.L., Akin J.F., Kligman M.A. 1982. Prevention of ultraviolet damage to the dermis of hairless mice by sunscreens. *The Journal of Investigative Dermatology*, 78(2): 181-189.

Kochevar E.I., Taylor R.C. 2005. Fotofísica, fotoquímica y fotobiología. En: Freedberg I., Eisen A., Wolf K., Austen F.K., Goldsmith A.L., Katz I.S. (Eds). *Fitzpatrick, Dermatología en Medicina General. Tomo 2. 6ª Edición. Medica Panamericana. España. 1425-1433 pp.*

Kochevar E.I., Taylor R.C., Krutmann J. 2009. Fundamentos de fotobiología y de fotoimmunología cutáneas. En: Wolf K., Goldsmith A.L., Katz I.S., Gilchrist A.B., Paller S.A., Leffell J.D. (Eds). *Fitzpatrick, Dermatología en Medicina General. Tomo 2. 7ª Edición. Médica Panamericana. España. 797-809 pp.*

Kostyuk V., Potapovich A., Suhan T., De Luca C., Pressi G., Dal Toso R., Korkina L. 2008. Plant polyphenols against UV-C induced cellular death. *Plant Medicine*, 74: 509–514.

Kullavanijaya P., Lim H.W. 2005. Photoprotection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 52: 937-958.

Kundoor V., Zhang X., Bommareddy A., Khalifa S., Fahmy H., Dwivedi C. 2007. Chemopreventive effects of sarcotriol on ultraviolet B-induced skin tumor development in SKH-1 hairless mice. *Marine Drugs*, 5: 197-207.

Lever F.W. 1979. Morfología de las células del infiltrado dérmico. En: Lever F.W. (Ed). *Histopatología de la piel. 5ª Edición. Editorial Intermédica. Argentina. 44-50 pp.*

Li W., Yu J.C., Shin D.Y., Pierce J.H. 1995. Characterization of a protein kinase C- $\delta$  (PKC- $\delta$ ) ATP binding mutant. *Journal of Biological Chemistry*, 270 (14): 8311-8318.

Libkind D., Moliné M., Broock M. 2004. Posibles mecanismos de fotoprotección en levaduras. *Radiobiología* 4: 84-88.



Lim W.H. 2009. Fotoprotección y protectores solares. En: Wolf K., Goldsmith A.L., Katz I.S., Gilchrist A.B., Paller S.A., Leffell J.D. (Eds). Fitzpatrick, Dermatología en Medicina General. Tomo 4. 7ª Edición. Medica Panamericana. España. 2137-2142 pp.

Lodish H., Berk A., Matsudaira P., Kaiser A.C., Krieger M., Scott P.M., Zipursky L., Darnell J. 2005. Biología celular y molecular. 5ª edición. Medica Panamericana. Estados Unidos. 935-973 pp.

Lui H., Anderson R.R. 2007. Radiation sources and interaction with skin. In: Lim H.W., Hönigsmann H., Hawk J.L.M. (Eds). Photodermatology. Informa Healthcare. New York. 29-40 pp.

Magaña M.G., Magaña M. 2003. Dermatología. Médica Panamericana. México. 377 p.

Maria M.I. 2008. Etno-farmacología en Iberoamérica, una alternativa a la globalización de las prácticas de cura. *Biblid*, 41: 61-95.

Marie-Claude M. 2005. Introducción a la dermofarmacia y a la cosmetología. Editorial Acribia S. A. España. 384 p.

Mason R.S., Sequeira V.B., Dixon K.M., Gordon-Thomson C., Pobre K., Dilley A., Mizwicki M.T., Norman A.W., Feldman D., Halliday G.M., Reeve V.E. 2010. **Photoprotection by 1 $\alpha$ ,25 dihydroxyvitamin D and analogs: Further studies on mechanisms and implications for UV-damage.** *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 121: 164–168.

Maverakis E., Miyamura Y., Bowen M.P., Correa G., Ono Y., Goodarzi H. 2009. Light, including ultraviolet. *Journal of Autoimmunity*, XXX: 1-11.

Meneses G.A., Mohar B.A. Principales neoplasias malignas en México. *El manual Moderno*. 137 p.

Milikowski C., Berman I. 1997. Color atlas of basic histopathology. Appleton & Lange. Hong Kong. 615 p.

Miner C.S., Dalton N.N. 1953. Glycerol. American Chemical Society Monograph Series. Reinhold Publishing Company. New York. 240 p.

Mittal A., Piyathilake C., Hara Y., Katiyar S.K. 2003. Exceptionally high protection of photocarcinogenesis by topical application of (-) -epigallocatechin-3-gallate in hydrophilic cream in SKH-1 hairless mouse model: relationship to inhibition of UVB-induced global DNA hypomethylation. *Neoplasia*, 5 (6): 555-565.



Moloney J.S., Learn B.D. 1992. The effect of systemic cyclosporine a on a hairless mouse model of photoaging. *Photochemistry and Photobiology*, 56 (4): 495-504.

Montagna W.B., Chase H.B., Melaragno H.P. 1952. The skin of hairless mice I. The formation of cyst and the distribution of lipids. *The Journal of Investigative Dermatology*, 19 (1): 83-94.

Montuenga B.L., Esteban R.F.J., Calvo G.A. 2009. *Técnicas en histología y biología celular*. Elsevier Masson. España. 35-88 pp.

Naylor M.F., Rigel D.S. 2006. Conceptos actuales sobre protectores solares y su aplicación. En: Rigel S.D., Friedman R.J., Dzubow M.L., Reintgen S.D., Bystry J., Marks R. (Eds). *Cáncer de piel*. Elsevier Saunders. España. 71-84 pp.

**Norman M. 2000. "Buddlejaceae". En: Luteyn J.L., Flagler Cary M., Rob Gradstein S.** (Eds). *Flora Neotropica, Monografía 81*. The New York Botanical Garden. 225 p.

Pastorelli G., Rossi R., Corino C. 2012. Influence of *Lippia citriodora* verbascósido on growth performance, antioxidant status, and serum immunoglobulins content in piglets. *Czech Journal of Animal Science*, 57 (7): 312–322.

Paulsen D.F. 1991. *Histología Básica. El Manual moderno*. México. 1-13 pp.

Pengelly A. 2004. *The constituents of medicinal plants. An introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine*. 2ª Edición. CABI Publishing. Estados Unidos. 172 p.

Peres P.S., Terra V.A., Guarnier F.A., Cecchini R., Cecchini A.L. 2011. Photoaging and chronological aging profile: Understanding oxidation of the skin. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 103: 93–97.

Puig S.L. 2009. *Anatomía y fisiología de la piel humana*. En: Ferrándiz C. (Ed). *Dermatología clínica*. 3ª Edición. Elsevier. España. 1-10 pp.

Quiñones J.L.A. 2009. *Transmitancia de la radiación ultravioleta en diferentes medios para su aplicación en proyectos de energía solar*. Tesis de Ingeniería Eléctrico-electrónico. Facultad de Ingeniería, UNAM. México. 95 p.

Reagan-Shaw S., Mukhtar H., Ahmad N. 2008. Resveratrol imparts photoprotection of normal cells and enhances the efficacy of radiation therapy in cancer cells. *Photochemistry and Photobiology*, 84: 415–421.



RHNM, Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas en México. 2001. Secretaría de Salud, dirección General de Epidemiología.

Fecha de consulta: 23 de mayo de 2011.

Fuente: <http://www.dgepi.salud.gob.mx/diveent/rhnm-01/rhnm-01.htm>.

Rodón L.A.J., Oliver L.M., Jacobo T.F. 2001. Examen dermatológico y funciones de la piel. En: Rodón L.J.A. (Ed). Temas dermatológicos: Pautas diagnósticas y terapéuticas. Tipografía Olympia, C. A. Venezuela. 7-22 pp.

Rodríguez-Peralto J.L., Alonso G.S. 2004. Estructura de la piel. En: Iglesias D.L., Guerra T.A., Ortiz R.P.L. (Eds). Tratado de dermatología. 2ª Edición. Mc Graw Hill Interamericana. España. 1-10 pp.

Romero R.S., Aguilar R.S., Rojas Z.E.C. 2003. *Buddleja cordata* h.b.k. ssp. *cordata* (*buddlejaceae*): propagación y anatomía de la madera. Polibotánica, 16: 63-78.

Rossi R., Corino C., Pastorelli G., Durand P., Prost M. 2009. Assessment of antioxidant activity of natural extracts. Italian Journal of Animal Science, 8: 655–657.

Ruiz T.M.R., Rodón L.A.J., Castillo D. 2001. Piel y sol, la cara oscura del sol. En: Rodón L.J.A. (Ed). Temas dermatológicos: Pautas diagnósticas y terapéuticas. Tipografía Olympia, C. A. Venezuela. 144-156 pp.

Rzedowski G.C. de; Rzedowski J. 2005. Flora fanerogámica del Valle de México. 2ª Edición, 1ª Reimpresión, Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán). México. 1406 p.

Santoro A., Bianco G., Picerno P., Aquino R.P., Autore G., Marzocco S., Gazzo P., Lioi M.B., Bifulco M. 2008. Verminoside and verbascoside-induced genotoxicity on human lymphocytes: Involvement of PARP-1 and p53 proteins. Toxicology Letters, 178: 71–76.

Santos-Cruz L.F., Ávila-Acevedo J.G., Ortega-Capitaine D., Ojeda-Duplancher J.C., Perdigón-Moya J.L., Hernández-Portilla L.B., López-Dionicio H., Durán-Díaz A., Dueñas-García I.E, Castañeda-Partida L., García-Bores A.M., Heres-Pulido M.E. 2011. Verbascoside is not genotoxic in the ST and HB crosses of the *Drosophila* wing spot test, and its constituent, caffeic acid, decreases the spontaneous mutation rate in the ST cross. Food and Chemical Toxicology, 50(3-4): 1082-1090.

Sarasin A. 1999. The molecular pathways of ultraviolet-induced carcinogenesis. Mutation Research, 428: 5–10.



Scheinfeld N., DeLeo V.A. 2006. Factores Etiológicos en el cáncer de piel: ambientales y biológicos. En: Rigel S.D., Friedman R.J., Dzubow M.L., Reintgen S.D., Bystryn Jean-Claude., Marks R. (Eds). *Cáncer de piel*. Elsevier Saunders. España. 61-70 pp.

SDA. 1990. Glycerine: an overview. The Soap and Detergent Association. Estados Unidos. 25 p.

Serra-Baldrich E., Tribó M.J. 1992. Acción de los ultravioletas en la piel. *Actualidad Dermatológica*, 329-336.

Sheng G.Q., Zhang J.R., Pu X.P., Ma J., Li C.L. 2002. Protective effect of verbascoside on 1-methyl-4-phenylpyridinium ion-induced neurotoxicity in PC12 cells. *European Journal of Pharmacology*, 451: 119– 124.

Sobotta-Hammersen. 1995. *Histología*. 4ª Edición. Marban. España. 1-5 pp.

Stellman J.M., Osinsky D., Markkanen P. 2001. Guía de productos químicos. En: Stellman J.M., McCann M., Warshaw L., Brabant C. *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo*. Volumen IV. Gestión editorial Chantal Dufresne. España. 104.1-104.429 pp.

Stevens A., Lowe S.J., Young B. 2003. *Wheater Histopatología básica, Atlas y texto en color*. 4ª Edición. Elsevier. España. 295 p.

Tae-Heung K., Ananthaswamy H.N., Kripke M.L., Ullrich S.E. 2003. Advantages of using hairless mice versus haired mice to test sunscreen efficacy against photoimmune suppression. *Photochemistry and Photobiology*, 78 (1): 37–42.

Tedesco A.C., Martínez L., González S. 1997. Photochemistry and photobiology of actinic erythema: defensive and reparative cutaneous mechanisms. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30: 561-575.

Tripp C.S., Blomme E.A.G., Chinn K.S., Hardy M.M., LaCelle P., Pentland A.P. 2003. Epidermal COX-2 induction following ultraviolet irradiation: suggested mechanism for the role of COX-2 inhibition in photoprotection. *The Journal of Investigative Dermatology*, 121 (4): 853-861.

Vayalil P.K., Mittal A., Hara Y., Elmetts C.A., Katiyar S.K. 2004. Green tea polyphenols prevent ultraviolet light-induced oxidative damage and matrix metalloproteinases expression in mouse skin. *The Journal of Investigative Dermatology*, 122: 1480 – 1487.



Verkman A.S., Hara-Chikuma M., Papadopoulos C.M. 2008. Aquaporins, new players in cancer biology. *Journal of Molecular Medicine*, 86: 523-529.

Verkman A.S. 2005. More than just water channels: unexpected cellular roles of aquaporins. *Journal of Cell Science*, 118 (15): 3225-3232.

Verschooten L., Claerhout S., Laethem A.V., Agostinis P., Garmyn M. 2006. New strategies of photoprotection. *Photochemistry and Photobiology*, 82: 1016-1023.

Vertuani S., Beghelli E., Scalambra E., Malisardi G., Copetti S., Dal Toso R., Baldisserotto A., Manfredini S. 2011. Activity and stability studies of verbascoside, a novel antioxidant, in dermo cosmetic and pharmaceutical topical formulations. *Molecules*, 16: 7068-7080.

Viloria C.M.J. 1999. *Manual de Laboratorio de Histología*. Corporación Editorial Edinova. México. 11-14 pp.

Vincent W.F., Neale P.J. 2000. Mechanisms of UV damage to aquatic organisms. En: Mora S., Demers S., Vernet M. (Eds). *The effects of UV radiation in the marine environment*. Cambridge Environmental Chemistry Series, 10. Cambridge University Press. Reino Unido. 149-176 pp.

WHO, Organización Mundial de la Salud.

Fecha de consulta: 08 de agosto de 2011.

Fuente: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs305/es/>.

Wright T.I., Spencer J.M., Flowers F.P. 2006. Chemoprevention of nonmelanoma skin cancer. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 54 (6): 933-946.

Wulff C.B., Kusewitt F.D., VanBuskirk M.A., Thomas-Ahner M.J., Jason F.D., Oberyszyn M.T. 2008. Sirolimus reduces the incidence and progression of UVB induced skin cancer in SKH mice even with co-administration of cyclosporine A. *The Journal of Investigative Dermatology*, 128(10): 2467-2473.

Yagura T., Makita K., Yamamoto H., Menck M.F.C., Schuch P.A. 2011. biological sensors for solar ultraviolet radiation. *Sensors*, 11: 4277-4294.

Yamada Y., Yasui H., Sakurai H. 2006. Suppressive effect of caffeic acid and its derivatives on the generation of UVA-induced reactive oxygen species in the skin of hairless mice and pharmacokinetic analysis on organ distribution of caffeic acid in ddY mice. *Photochemistry and Photobiology*, 82: 1668-1676.



Yao-Ping L., You-Rong L., Jian-Guo X., Qingyun P., Weichung J.S., Yong L., Allan H.C. 2009. Tumorigenic effect of some commonly used moisturizing creams when applied topically to UVB-pretreated high-risk mice. *The Journal of Investigative Dermatology*, 129 (2): 468-475.

Young R.A., Walker L.S. 2009. Efectos cutáneos agudos y crónicos de la radiación ultravioleta. En: Wolf K., Goldsmith A.L., Katz I.S., Gilchrist A.B., Paller S.A., Leffell J.D. (Eds). *Fitzpatrick, Dermatología en Medicina General*. Tomo 2. 7ª Edición. Medica Panamericana. 809-815 pp.

Zappi E., Zappi A.E. 2007. Nociones de embriología, anatomía y bioquímica cutánea. En: Zappi E., Zappi A.E. (Eds). *Dermatopatología, clasificación y estudio razonado de las lesiones cutáneas*. Ascune Hnos. Argentina. 3-23 pp.

Zheng-Xiang W., Zhuge J., Fang H., Prior A.B. 2001. Glycerol production by microbial fermentation: A review. *Biotechnology Advances*, 19: 201-223.