



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**FOTOPROTECCIÓN DE LOS EXTRACTOS  
METANÓLICOS DE *Dyssodia tagetiflora*  
(ASTERACEAE) E *Hyptis mociniana*  
(LABIATAE) A NIVEL CELULAR Y TISULAR**

**TESIS**

Que para obtener el título de

**BIÓLOGA**

Presenta

**Sayra Ximena Zamora Salas**

Directora de tesis

**Dra. Adriana Montserrat Espinosa González**



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, 2018.



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.

## **AGRADECIMIENTOS**

---

Investigación realizada gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM proyecto IN218616.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, la máxima casa de estudios.

A la Dra. Adriana Montserrat Espinosa González, directora de este proyecto.

A los miembros de mi comité evaluador:

Dra. Rocío Serrano Parrales

Dra. Ana María García Bores

Dr. Roberto Eduardo Lopez Urrutia

Dra. María del Rosario González Valle

---

---

# Índice

---

<b>1. Resumen</b>	<b>4</b>
<b>2. Introducción</b>	<b>5</b>
<b>3. Marco teórico</b>	<b>7</b>
La piel	7
Energía proveniente del Sol	24
La RUV y la piel	26
Fotoprotección	36
<b>4. Antecedentes</b>	<b>43</b>
<b>5. Justificación</b>	<b>45</b>
<b>6. Pregunta científica</b>	<b>45</b>
<b>7. Hipótesis</b>	<b>45</b>
<b>8. Objetivos</b>	<b>46</b>
<b>9. Estrategia metodológica</b>	<b>46</b>
Pruebas de citotoxicidad y fotoprotección <i>in vitro</i>	47
Prueba de penetración de los extractos en piel de ratones SKH-1	49
Experimento agudo de fotoprotección en ratones SKH-1	49
Evaluación de la presencia de eritema en la piel de ratones SKH-1 de forma macroscópica	50
Análisis histológico	50
<b>10. Resultados y discusión</b>	<b>54</b>
Citotoxicidad de los extractos de <i>D. tagetiflora</i> e <i>H. mociniana</i> en queratinocitos humanos de la línea celular HaCaT	54
Fotoprotección de los extractos metanólicos de <i>D. tagetiflora</i> e <i>H. mociniana</i> en queratinocitos HaCaT	57
Prueba de penetración de los extractos en la piel de ratones SKH-1	61
Evaluación de la presencia de eritema en la piel de ratones SKH-1 después de la exposición aguda a la RUV	63
Análisis histológico del experimento de exposición aguda a la RUV en ratones SKH-1.	65
<b>11. Conclusiones</b>	<b>82</b>
<b>12. Bibliografía</b>	<b>83</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Componentes de la barrera cutánea.	8
<b>Figura 2.</b> Estructura general de la piel.	9
<b>Figura 3.</b> Estructura general de la epidermis.	10
<b>Figura 4.</b> Componentes de la epidermis.	13
<b>Figura 5.</b> Estructura de la unión dermoepidérmica.	16
<b>Figura 6.</b> Estructura de la piel con énfasis en los componentes dérmicos.	17
<b>Figura 7.</b> Esquematación de un mastocito.	21
<b>Figura 8.</b> Componentes de la dermis.	21
<b>Figura 9.</b> Estructura de la hipodermis o tejido subcutáneo.	22
<b>Figura 10.</b> Esquematación de la vasculatura dérmica.	24
<b>Figura 11.</b> Espectro electromagnético.	25
<b>Figura 12.</b> Incidencia de la RUV en la superficie terrestre y su interacción con la piel.	27
<b>Figura 13.</b> Efectos adversos de la RUV sobre la piel y algunos productos naturales con actividad protectora.	39
<b>Figura 14.</b> <i>Dyssodia tagetiflora</i>	40
<b>Figura 15.</b> <i>Hyptis mociniana</i>	41
<b>Figura 16.</b> Ratón desnudo SKH-1 y corte histológico	43
<b>Figura 17.</b> Comparación histológica de los grupos control. Tinción H-E.	68
<b>Figura 18.</b> Comparación histológica de los grupos control. Tinción de Dominici.	71
<b>Figura 19.</b> Comparación histológica de los grupos tratados con <i>D. tagetiflora</i> . Tinción H-E.	73
<b>Figura 20.</b> Comparación histológica de los grupos tratados con <i>D. tagetiflora</i> . Tinción de Dominici.	75
<b>Figura 21.</b> Comparación histológica de los grupos tratados con <i>H. mociniana</i> . Tinción H-E.	78
<b>Figura 22.</b> Comparación histológica de los grupos tratados con <i>H. mociniana</i> . Tinción de Dominici.	80

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Funciones de la piel	7
<b>Tabla 2.</b> Grupos experimentales y concentraciones utilizadas en los experimentos de citotoxicidad y fotoprotección en queratinocitos HaCaT.	48
<b>Tabla 3.</b> Daños agudos causados por la exposición a la RUV	51
<b>Tabla 4.</b> Cantidad ( $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ) y porcentaje de extracto de <i>D. tagetiflora</i> e <i>H. mociniana</i> que penetra en piel de ratones SKH-1	61

## Índice de gráficas

<b>Gráfica 1.</b> Prueba de citotoxicidad de los extractos de <i>D. tagetiflora</i> e <i>H. mociniana</i> a diferentes concentraciones (ppm) en queratinocitos de la línea celular HaCaT.	55
<b>Gráfica 2.</b> Experimento de fotoprotección de los extractos de <i>D. tagetiflora</i> e <i>H. mociniana</i> sobre queratinocitos de la línea celular HaCaT.	59
<b>Gráfica 3.</b> Valores colorimétricos que indican la presencia de eritema en piel de ratones SKH-1 irradiados y tratados con los extractos de <i>D. tagetiflora</i> e <i>H. mociniana</i> .	64
<b>Gráfica 4.</b> Grado y extensión de los daños epidérmicos en piel de ratones SKH-1 con y sin exposición a la RUV de forma aguda.	66
<b>Gráfica 5.</b> Grado y extensión de los daños dérmicos en piel de ratones SKH-1 con y sin exposición a la RUV de forma aguda.	67
<b>Gráfica 6.</b> Promedio de mastocitos por campo de observación en un experimento de exposición aguda a la RUV.	70

---

# 1. RESUMEN

---

En los humanos, la piel es el órgano que más se expone a la radiación ultravioleta (RUV), lo que provoca daños agudos y crónicos. Por esta razón, se recurre a la fotoprotección como una estrategia para controlar y/o prevenir los daños ocasionados por la RUV. Además de los fotoprotectores sintéticos, existen productos naturales que, al mismo tiempo de ser fotoprotectores, tienen actividad antioxidante, antiinflamatoria, inmunomoduladora, antimutagénica y anticarcinogénica con la capacidad de inhibir o retrasar eventos celulares y moleculares para así prevenir o evitar el daño cutáneo inducido por RUV.

Las familias Asteraceae y Labiatae son reconocidas por su uso en la medicina tradicional y por la presencia de compuestos con actividad antioxidante y antiinflamatoria. Por tal motivo, en este trabajo se utilizaron los extractos metanólicos de *Dyssodia tagetiflora* e *Hyptis mociniana* para evaluar su actividad fotoprotectora en queratinocitos humanos inmortalizados de línea celular HaCaT y en piel de ratones desnudos SKH-1 en un experimento de exposición aguda a la RUV.

Ninguno de los extractos tuvo actividad citotóxica en queratinocitos HaCaT. Además, estos extractos demostraron tener actividad fotoprotectora en una forma dependiente de la dosis.

En el análisis histológico, el extracto metanólico de *D. tagetiflora* ejerció un ligero efecto protector contra la RUV en piel de ratones SKH-1, y al mismo tiempo permitió el desarrollo de una inflamación controlada, al aumentar el número de mastocitos presentes en dermis. Por su parte, el extracto de *H. mociniana*, tuvo efecto fotoprotector disminuyendo los daños relacionados con la quemadura solar en piel de ratones SKH-1 e indujo la reducción en el número de mastocitos presentes en la dermis, lo que indica que este extracto tuvo actividad antiinflamatoria. Ambos extractos, aunque en diferentes niveles, redujeron los daños ocasionados por exposición a la RUV y por tanto son candidatos a ser fotoprotectores.

---

## 2. INTRODUCCIÓN

---

La radiación proveniente del Sol es un factor vital en distintos procesos de los seres vivos. Para los humanos es importante en la síntesis de vitamina D3 y la regulación del ciclo circadiano, además de inducir una sensación de bienestar y vitalidad. Sin embargo, al interactuar con la piel también produce reacciones deletéreas agudas como eritema e inflamación; y crónicas como fotoenvejecimiento y cáncer de piel (Kochevar et al., 2014).

La luz solar que incide en la Tierra se puede dividir en infrarroja (más allá de los 700 nm), luz visible (400-700 nm) y radiación ultravioleta (RUV) que va de los 200 a 400 nm. La RUV se divide en UV-C (200-280 nm) que es retenida en la capa atmosférica, UV-B (280-320 nm) y UV-A (320-400 nm) que conforman el 5% y 95% de la radiación ultravioleta en la superficie terrestre, respectivamente (Villegas-Álvarez et al., 2009).

En los humanos, la piel es el órgano que más se expone a la RUV. Al incidir en la piel, una parte de la RUV es absorbida por moléculas cutáneas que actúan como cromóforos, otra parte es transmitida a capas sucesivas de la piel y una última parte es reflejada y dispersada. Sólo la radiación que es absorbida genera reacciones fotobiológicas en la piel (Kochevar et al., 2014).

La RUV-A es responsable de respuestas cutáneas como eritema, pigmentación inmediata, melanogénesis retardada, así como daño al tejido conjuntivo y elastosis solar. La RUV-B es la principal causante de eritema (quemadura solar), inflamación, daño al ADN como rompimiento de cadena simple, de doble cadena, dímeros de pirimidina ciclobutano (CPD), fotoproductos 6-4 (6-4PP), entre otros; fotoenvejecimiento, lesiones precancerosas como queratosis actínica y cáncer de piel. Todas estas reacciones cutáneas se presentan en conjunto con síntomas como tumefacción y ardor o dolor de la piel expuesta (Afaq, 2011; Kochevar et al., 2014).

El cáncer de piel es un problema de salud pública que ha incrementado en las últimas décadas debido al aumento en la exposición a la RUV (Afaq, 2011). En respuesta a esta problemática, la fotoprotección ha cobrado un importante auge como una forma de controlar y prevenir los daños ocasionados por esta radiación. Además de los



compuestos fotoprotectores sintéticos, existen agentes naturales provenientes de las plantas con potencial antioxidante, antiinflamatorio, antimutagénico, inmunomodulador y anticarcinogénico que pueden inhibir o retrasar eventos celulares y moleculares para así prevenir o evitar el daño cutáneo inducido por la RUV (Gilaberte y González, 2010).

Los principales compuestos de origen natural evaluados en fotoprotección son los polifenoles, que poseen un alto poder antioxidante y absorben longitudes de onda correspondientes a la RUV, lo que les permite reducir el daño inducido por esta radiación. Los polifenoles se encuentran entre los grupos de metabolitos más prometedores que pueden ser explotados como agentes quimiopreventivos (Afaq y Katiyar, 2012).

El género *Dyssodia*, perteneciente a la familia Asteraceae, es reconocido por poseer grandes cantidades de compuestos fenólicos entre ellos el ácido clorogénico (Bakar et al., 2015). *D. tagetiflora* Lag. presenta compuestos como quercetina, hiperósido y avicularina reconocidos por ser antioxidantes (Choi et al., 2011; García-Bores et al., 2018), antiinflamatorios (Choi et al., 2011; Vo et al., 2012), cardioprotectores (Ku et al., 2014), anticancerosos (Wang et al., 2016), etc.

La familia Labiatae, posee una amplia diversidad e importancia medicinal en México. Dentro de esta familia se encuentra el género *Hyptis* que se ha utilizado tradicionalmente contra enfermedades respiratorias, problemas menstruales, antidiarréico, antiinflamatorio, etc. Está reportado que en comunidades tzotziles y tzetales del estado de Chiapas, se utiliza tradicionalmente *H. mociniana* Benth como una herramienta natural contra hinchazones y edemas (Domínguez-Vázquez y Castro-Ramírez, 2002). Existe sólo un reporte sobre las actividades biológicas y componentes químicos de esta especie, se reportó que presentó actividad antioxidante y fotoprotectora en un modelo bacteriano (Nolasco, 2018).

Por lo anterior, este trabajo tuvo el objetivo determinar la capacidad fotoprotectora de los extractos metanólicos de *D. tagetiflora* y de *H. mociniana* a nivel celular y tisular.

---

## 3. MARCO TEÓRICO

---

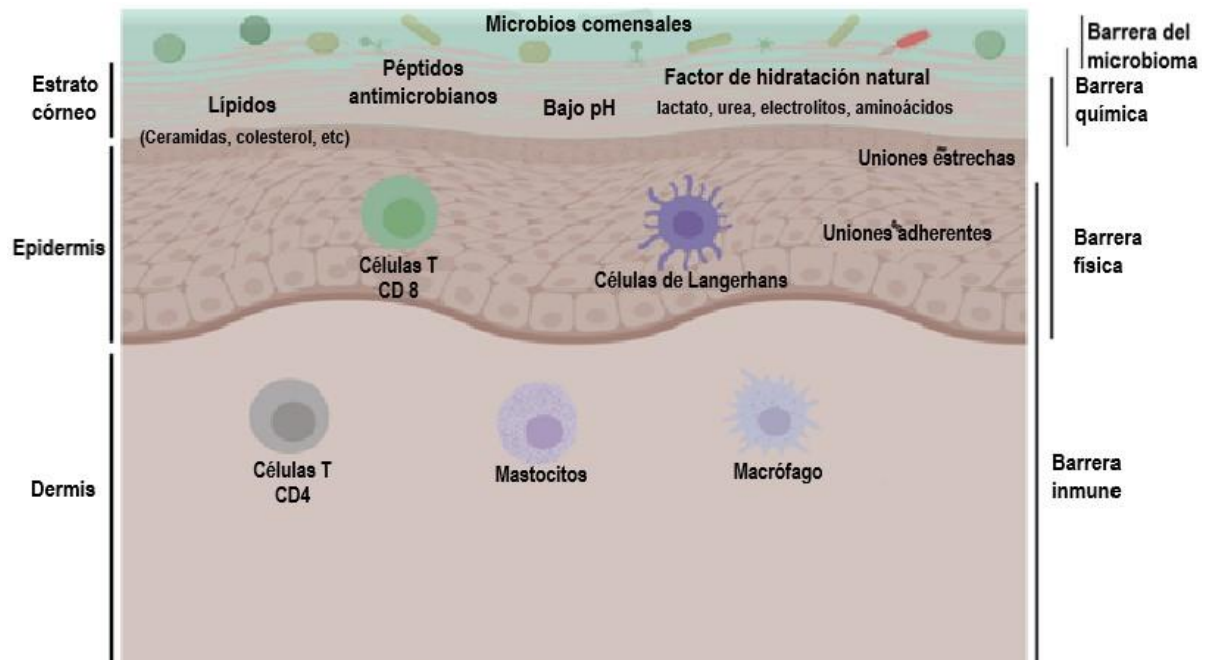
### 3.1 LA PIEL

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano; en un adulto promedio, mide alrededor 2m<sup>2</sup> y conforma cerca del 15% del peso corporal total (Lai-Cheong y McGrath, 2017). Representa el principal medio de intercambio del cuerpo con el entorno y al mismo tiempo lo protege de él (Chu, 2014). Las principales funciones de este órgano se enlistan en la tabla 1.

**Tabla 1.** Funciones de la piel (Modificado de Losquadro, 2017; Marks et al., 2018).

Función	Estructura responsable
Barrera	Epidermis
• Físico	• Estrato córneo
• Luz	• Melanocitos
• Inmunológica	• Células de Langerhans
Base dura y flexible	Dermis
Regulación de temperatura	Vasos sanguíneos Glándulas sudoríparas eccrinas
Sensación	Nervios, células de Merkel.
Agarre	Uñas
Decorativo	Cabello y uñas
Protección contra desecación e infecciones	Glándulas sebáceas y estrato córneo
Aislamiento del frío y de trauma	Grasa subcutánea
Reservorio calórico	Grasa subcutánea

Existen dos métodos de división de la piel para facilitar su estudio como órgano. Además del conocido método de división anatómica, existe un segundo método en el que se divide a la piel en sus diferentes componentes funcionales. La piel representa una barrera con cuatro diferentes componentes funcionales: la barrera del microbioma, la química, la física y la inmunitaria como se representa en la figura 1 (Eyerich et al., 2018).



**Figura 1.** Componentes de la barrera cutánea (Modificado de Eyerich et al., 2018).

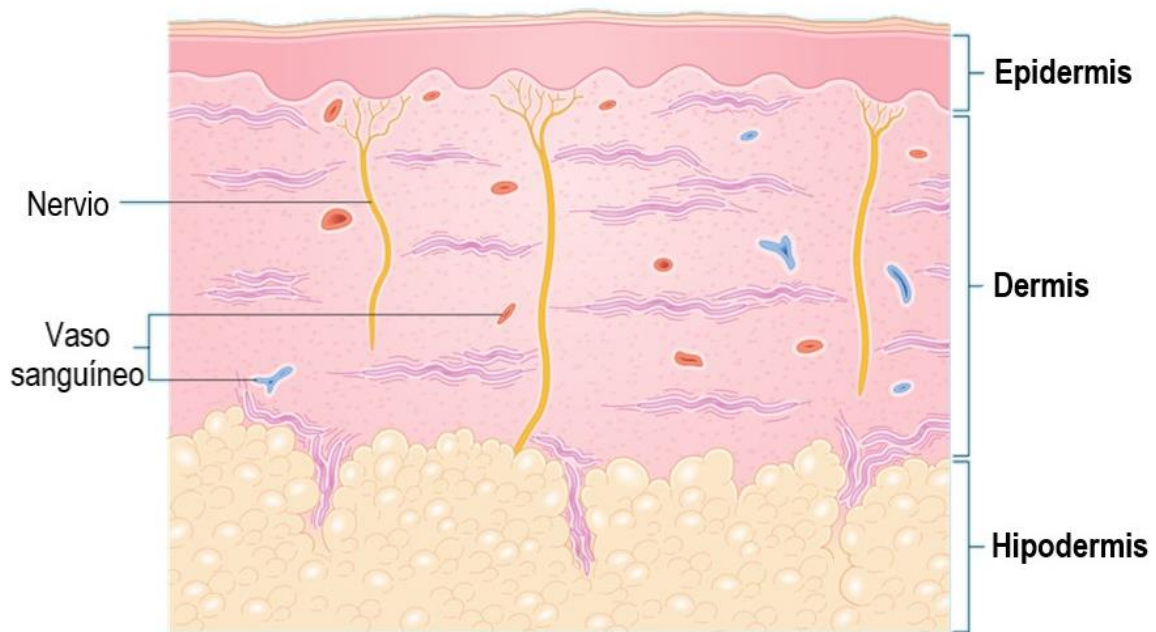
Estas barreras funcionales de la piel residen en una o varias de sus tres capas anatómicas que son unidades interdependientes que regulan la estructura y la funcionalidad de este órgano (Chu, 2014).

### 3.1.1 COMPONENTES ANATÓMICOS DE LA PIEL

La piel cuenta con tres capas principales: epidermis, dermis e hipodermis o tejido subcutáneo (figura 2). La epidermis constituye la principal barrera física de la piel (Chu, 2014). La dermis vascularizada, provee de soporte y nutrición a las células epidérmicas en división. Además, contiene nervios y apéndices como glándulas sudoríparas, folículos pilosos, glándulas sebáceas y uñas. Finalmente, la hipodermis es la capa más profunda y está compuesta principalmente por tejido adiposo (Marks et al., 2018).

#### ◦ Epidermis

Es la cara externa de la piel y la encargada de dar color, textura e hidratación a la misma. Es una capa queratinizada y se divide de forma general en cuatro estratos, sin embargo, en zonas sujetas a alto estrés mecánico como las palmas de las manos y las plantas de los pies, existe una quinta capa entre el estrato córneo y el granuloso llamada estrato lúcido (Chu, 2014; Marks et al., 2018).

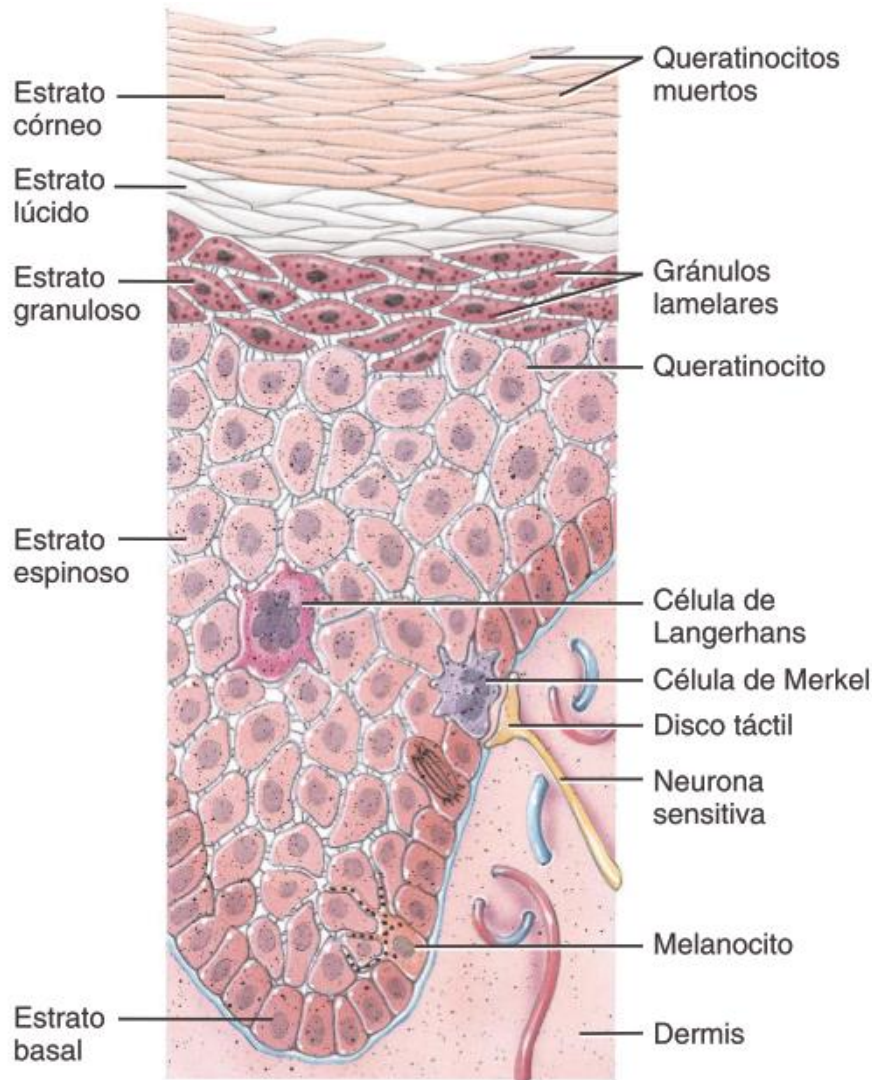


**Figura 2.** Estructura general de la piel (Modificado de Marks et al., 2019).

Los queratinocitos son el principal tipo celular de la epidermis, conforman cerca del 95% de las células. Los melanocitos, células de Merkel -mecanorreceptoras- y otras inmigrantes como linfocitos y células de Langerhans -presentadoras de antígenos- conforman el 5% restante (Chu, 2014; Lai-Cheong y McGrath, 2017).

Los queratinocitos se diferencian partiendo de la capa basal hasta las células terminales del estrato córneo llamadas corneocitos. Este proceso permite la maduración de la queratina de la epidermis (Losquadro, 2017).

La cara interna de la epidermis posee un contorno irregular, desarrolla invaginaciones hacia la dermis llamadas crestas de Rete que, a su vez, dan forma a las papilas dérmicas. Estas prolongaciones funcionan como una estrategia para asegurar el anclaje entre la epidermis y la dermis (Marks et al., 2018). La estructura general de la epidermis se esquematiza en la figura 3.



**Figura 3.** Estructura general de la epidermis (Tortora y Derrickson, 2014).

### **Capa basal o estrato germinativo**

Los queratinocitos del estrato germinativo o basal son células cilíndricas mitóticamente activas, que se adhieren a la membrana basal mediante filamentos de queratinas con los hemidesmosomas y a las células circundantes con desmosomas (Chu, 2014) (figura 4).

En esta capa epidérmica, se da lugar a los apéndices, como uñas, unidades pilosebáceas, glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas (Marks et al., 2018), y se lleva a cabo la diferenciación de los queratinocitos o queratinización hacia los estratos más superficiales. Conforme los queratinocitos abandonan la capa basal para pasar a los siguientes estratos epidérmicos, las células detienen el ciclo celular, se desactiva la expresión de algunas proteínas y se inicia a la ejecución del programa de diferenciación

terminal (Blanpain y Fuchs, 2008). En este proceso, los queratinocitos adquieren una forma aplanada por la acción de la filagrina, una proteína que forma parte de los gránulos de queratohialina en los filamentos de queratina (Lai-Cheong y McGrath, 2017).

El producto de la queratinización es un queratinocito terminalmente diferenciado llamado corneocito que contiene filamentos de queratina, proteínas de matriz y una membrana plasmática reforzada con lipoproteínas de superficie (Chu, 2014). El proceso de queratinización, en un humano promedio, toma alrededor de cuatro semanas, sin embargo, este periodo puede alterarse en escenarios hiperproliferativos o de detención del crecimiento (Marks et al., 2018).

Además de los queratinocitos, en esta capa epidérmica habitan los melanocitos, células dendríticas sintetizadoras de melanina que le confiere el color a la piel que se puede observar de forma macroscópica (Chu, 2014; Lai-Cheong y McGrath, 2017).

### **Capa espinosa**

Este estrato recibe su nombre gracias a los abundantes desmosomas que poseen sus queratinocitos (figura 4) y que mantienen adheridas las células epidérmicas dando resistencia al estrés mecánico (Chu, 2014; Losquadro, 2017). Los queratinocitos espinosos se caracterizan por sintetizar queratinas K1 y K10 específicas de la diferenciación o de la queratinización (Blanpain y Fuchs, 2008; Chu, 2014).

En el estrato espinoso es donde comienzan a formarse gránulos con contenido lipídico dentro de los queratinocitos del estrato granuloso. Estos gránulos laminares están encargados de liberar precursores lipídicos propios del estrato córneo en el espacio intercelular (Chu, 2014; Losquadro, 2017).

### **Capa granulosa**

Su nombre hace referencia a los gránulos de queratohialina presentes en los queratinocitos de esta capa (figura 4). Estos gránulos son parte de los componentes estructurales que formarán la barrera epidérmica y están compuestos principalmente por filagrina, involucrina, filamentos de queratina y loricina (Chu, 2014; Marks et al., 2018).

En la capa granulosa comienza a formarse la envoltura celular de los corneocitos. Este proceso inicia con la formación de monómeros de filagrina a partir de profilagrina y culmina con la degradación de la filagrina en moléculas como ácido urocánico y ácido pirrolidocarboxílico que contribuyen a la hidratación del estrato córneo y a filtrar la RUV. La loricrina, después de disociarse de los gránulos de queratohialina, se une a los desmosomas y a la membrana plasmática formando la envoltura de células queratinizadas.(Chu, 2014; Marks et al., 2018).

En la capa granulosa, los queratinocitos contienen gránulos laminares que contienen polisacáridos, glicoproteínas y lípidos que se extruyen en el espacio intercelular y que ayudan a formar la materia que promueve la adhesión de las células en el estrato córneo (Marks et al., 2018).

El proceso de diferenciación de las células granulosas culmina con su apoptosis, sólo se conserva el empaque de queratina y la matriz de filagrina fabricados con anterioridad (Chu, 2014). Entre las células granulosas se encuentran enzimas degradantes del núcleo y otros organelos (Marks et al., 2018). De esta manera, se forman los corneocitos.

### **Estrato córneo**

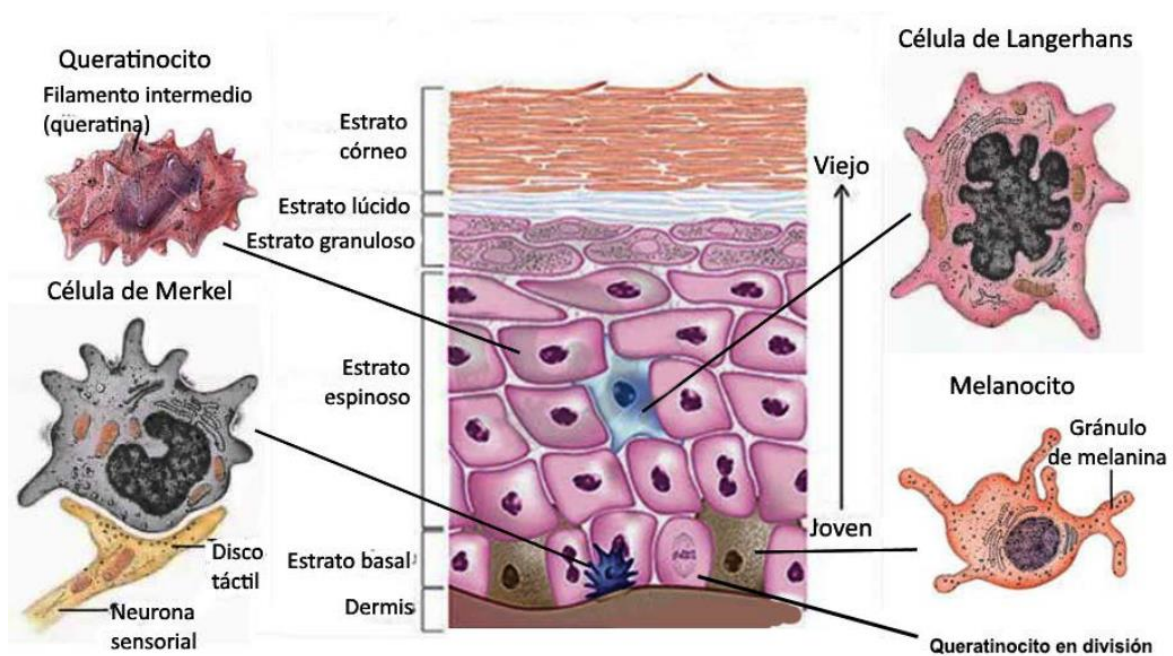
El estrato córneo es la capa más expuesta de la epidermis (figura 4) y, por lo tanto, juega un papel esencial en la protección contra agresiones mecánicas, desecación y penetración de sustancias solubles (Baroni et al., 2012; Chu, 2014).

Este estrato está compuesto por queratinocitos terminalmente diferenciados anucleados, apilados en capas, queratinizados y aplanados llamadas corneocitos (Chu, 2014). Tiene un grosor promedio de 15 a 25 capas de células, a excepción de las palmas de las manos y las plantas de los pies, donde alcanza un grosor de hasta 100 capas (Marks et al., 2018).

Los corneocitos se encuentran embebidos en una sustancia cementante intercelular unida covalentemente que regula la permeabilidad, la descamación, la actividad contra péptidos microbianos, exclusión de toxinas y la absorción química selectiva. Éstas propiedades químicas están dadas tanto por la matriz lipídica extracelular, como por la envoltura proteica de los corneocitos (Baroni et al., 2012; Chu, 2014; Marks et al., 2018).

Los corneocitos desempeñan un papel esencial dándole refuerzo mecánico a la piel, hidratación, dando inicio a la inflamación mediada por citocinas y protegiéndola del daño por exposición a la RUV (Chu, 2014).

La mayoría de los lípidos que conforman la sustancia cementante intercelular del estrato córneo son sintetizados en el estrato granuloso por los gránulos laminares que, por exocitosis, depositan en el espacio intercelular del estrato córneo todo su contenido lipídico que posteriormente será modificado y reordenado en laminillas intercelulares que se posicionan paralelamente a la superficie celular. Después de este proceso, los lípidos polares sufren una transformación enzimática a compuestos apolares como ceramidas y ácidos grasos libres. Esta transformación resulta en la acumulación de un compuesto muy denso en el espacio intersticial del estrato córneo (Baroni et al., 2012).



**Figura 4.** Componentes de la epidermis (Espinosa-González, 2016).

### Otros tipos celulares de la epidermis

**Melanocitos.** Son células dendríticas productoras del pigmento melanina. Estas células residen principalmente en la capa basal de la epidermis y en los folículos pilosos (Castell Rodríguez et al., 2010). El principal factor que induce la síntesis de este pigmento es la RUV (Marks et al., 2018) (figura 4).



Los melanocitos poseen organelos llamados premelanosomas, dentro de los cuales se sintetiza la melanina; ya que estos organelos contienen melanina, se convierten en melanosomas. Una vez completa la síntesis de melanina, se transfieren los melanosomas por secreción citócrina a los queratinocitos a través de sus dendritas que se extienden hacia el estrato espinoso. Los queratinocitos fagocitan los extremos de las dendritas junto con los melanosomas, los cuales se disponen sobre el núcleo de estas células -formando una “gorra de melanina”- y son de gran utilidad protegiendo al ADN de la RUV (Castell Rodríguez et al., 2010; Lai-Cheong y McGrath, 2017; Losquadro, 2017; Marks et al., 2018).

Existen dos tipos de melanina. La más común es la eumelanina, de color marrón y está contenida en melanosomas ovoides. Esta melanina es un eficaz antioxidante, ya que atrapa los radicales libres formados por la RUV. La variación en el color de la piel está dada por el número, tamaño y disposición de los melanosomas dentro de los queratinocitos. La segunda es la feomelanina de color anaranjado que se contiene en melanosomas esféricos. Este tipo de melanina la poseen personas pelirrojas y algunos tumores de cáncer de piel melanómico. La feomelanina no es buen antioxidante por lo cual, las personas pelirrojas corren un mayor riesgo de adquirir cáncer de piel (Castell Rodríguez et al., 2010).

**Células de Merkel.** Son células mecanorreceptoras tipo I de adaptación lenta que se encuentran en la capa basal y están unidos a los queratinocitos mediante desmosomas. Se localizan en toda la extensión epidérmica, sin embargo, se encuentran más concentradas en regiones de alta sensibilidad como las palmas de las manos, las plantas de los pies, labios, cavidad oral, folículos pilosos, etc (Chu, 2014; Losquadro, 2017; Marks et al., 2018) (figura 4).

Las células de Merkel se agrupan y se asocian con las terminaciones nerviosas periféricas y de esta manera se forman estructuras llamadas discos táctiles lo cuales contribuyen a percibir la sensación fina (Losquadro, 2017).

**Células de Langerhans.** Son células dendríticas presentadoras y procesadoras de antígenos. Se encuentran en epitelios como la piel (principalmente el estrato espinoso y granuloso, aunque también en la dermis) la mucosa oral, vaginal, intestinal, corneal y

bronquial. En la piel constituyen del 2 al 5% del total de células epidérmicas (Castell Rodríguez et al., 2010; Chu, 2014; Losquadro, 2017) (figura 4).

Las células de Langerhans se originan de precursores provenientes de la médula ósea. Poseen organelos característicos en forma de raqueta en el citoplasma llamados gránulos de Birbeck que son derivados de la membrana plasmática y del aparato de Golgi en conjunto (Castell Rodríguez et al., 2010; Marks et al., 2018).

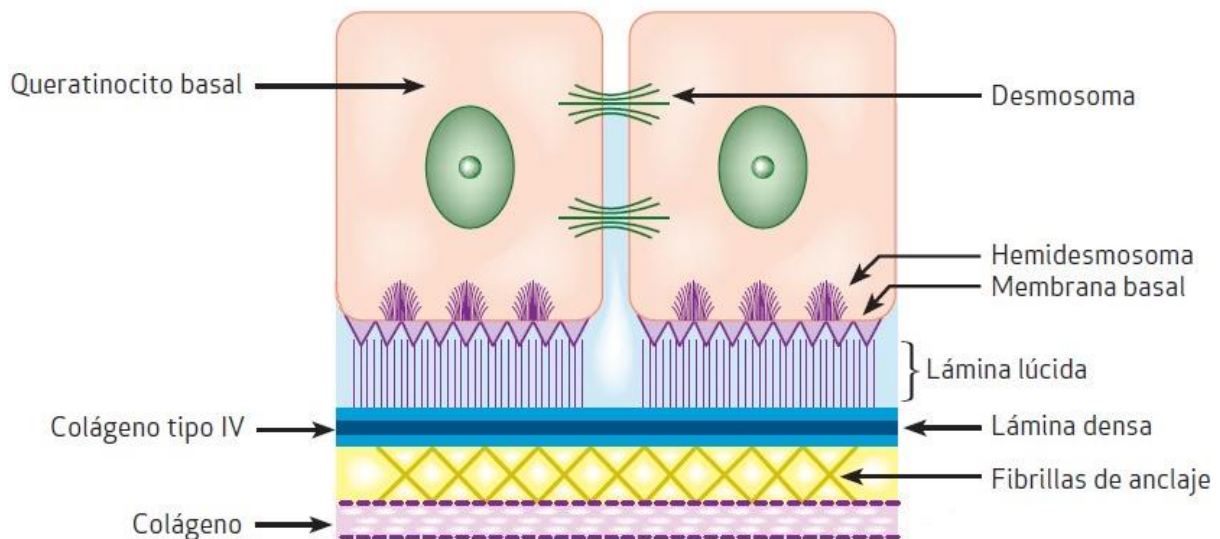
El papel principal de estas células es inducir respuestas inmunológicas de estimulación o tolerancia, además de llevar a cabo la unión de antígenos a los linfocitos T de la epidermis. Estas células expresan moléculas como: moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (MHC-II), antígeno de función asociada a los linfocitos 3 (LFA-3), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), ICAM-3, proteína B7 co-estimuladora de adhesión a las células T (B7), grupo de diferenciación 1a (CD1a) y CD40 (Maverakis et al., 2010). Por lo tanto, las células de Langerhans están involucradas en mecanismos patológicos subyacentes a la dermatitis alérgica por contacto, la leishmaniasis cutánea, la infección por VIH y a otras patologías (Castell Rodríguez et al., 2010; Chu, 2014).

El número y acción de las células de Langerhans decrecen a medida que son expuestas a la RUV. Por lo cual, la inmunosupresión generada por la RUV, especialmente UV-B, se propicia un ambiente idóneo para el desarrollo de cáncer de piel (Chu, 2014; Losquadro, 2017).

- Unión dermoepidérmica (UDE)

Es la zona de la membrana basal que forma la interfaz entre la epidermis y la dermis. Está compuesta por una red de macromoléculas que unen a los filamentos de queratina de los queratinocitos basales con las fibras de colágeno de la dermis superficial lo que protege la piel de las fuerzas de cizallamiento externas. Esta zona, sirve como soporte de la epidermis, determina la polaridad del crecimiento, dirige la organización del citoesqueleto en las células basales, produce señales de diferenciación y cumple las funciones de una barrera semipermeable (Chu, 2014; Lai-Cheong y McGrath, 2017; Marks et al., 2018).

La UDE está compuesta de cuatro regiones esquematizadas en la figura 5: la primera región la conforman los filamentos de queratina en los queratinocitos basales unidos a hemidesmosomas; estos a su vez se unen a los filamentos de anclaje en la lámina lúcida. Esta es una zona relativamente translúcida atravesada por delgados filamentos de anclaje que conectan los hemidesmosomas de las células basales con la lámina densa que es una región compuesta en su mayoría por colágeno tipo IV derivado de células epidérmicas. Finalmente el cuarto componente son las fibrillas de anclaje que son filamentos de colágeno fibrosos y gruesos, y se encuentran en la región de la dermis papilar (Losquadro, 2017; Marks et al., 2018).



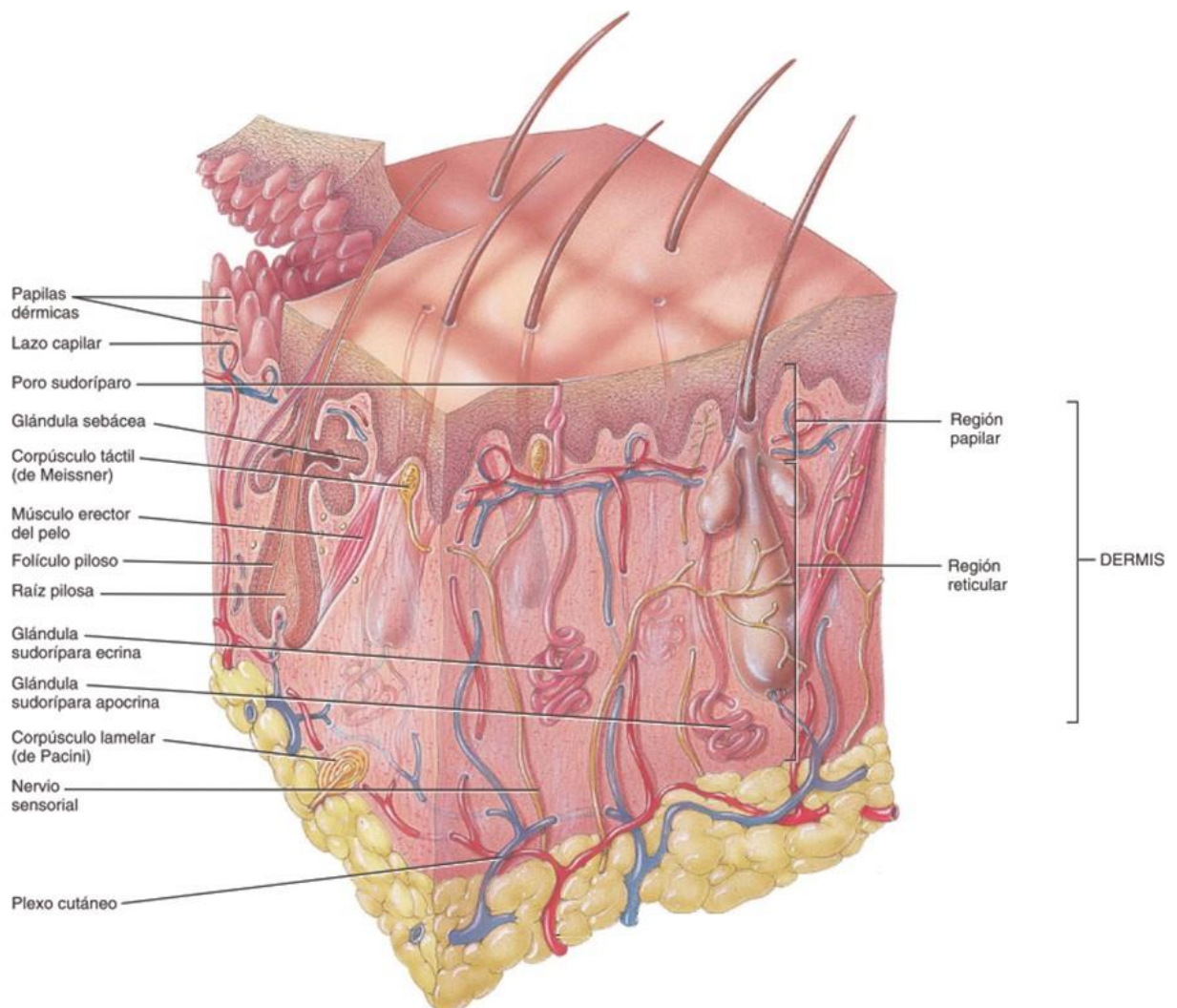
**Figura 5.** Estructura de la unión dermoepidérmica (modificado de Arenas Guzmán, 2015).

◦ Dermis

La dermis es el mayor constituyente de la piel, es un sistema compuesto por elementos fibrosos, filamentosos, difusos y celulares del tejido conjuntivo. Dentro de la dermis se encuentran redes vasculares, redes nerviosas y apéndices cutáneos (Chu, 2014; Marks et al., 2018). Está dividida en dermis papilar y dermis reticular que difieren en la organización del tejido conjuntivo, densidad celular y patrones nerviosos y vasculares (Chu, 2014; Lai-Cheong y McGrath, 2017).

Los principales tipos celulares de la dermis son fibroblastos, mastocitos, macrófagos y células circulantes transitorias del sistema inmune (Chu, 2014; Lai-Cheong y McGrath, 2017). Su grosor va de 0.5 a 5 mm dependiendo de la zona en que se encuentre (Lai-Cheong y McGrath, 2017; Marks et al., 2018).

La dermis, en conjunto con la epidermis, mantiene las propiedades de ambos tejidos, además de influir en la formación de la UDE y los apéndices epidérmicos durante el desarrollo, participar en la reparación y remodelación de la piel después de sufrir una herida. Además, le da resistencia a la tensión, flexibilidad y elasticidad a la piel. Le brinda al cuerpo protección contra lesiones mecánicas, fija agua, contribuye a la regulación térmica e incluye receptores de los estímulos sensoriales (Castell Rodríguez et al., 2010; Chu, 2014). Cerca del 70% del peso seco de la dermis es colágeno, principalmente colágeno tipo I y III. La elastina y las microfibrillas elásticas representan cerca del 5% (Lai-Cheong y McGrath, 2017) (figura 6).



**Figura 6.** Estructura de la piel con énfasis en los componentes dérmicos (modificado de Tortora y Derrickson, 2014).

### Dermis papilar

Esta parte de la dermis que limita con la UDE, se amolda a los contornos de la epidermis y está abastecido con un gran número de vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas

(Lai-Cheong y McGrath, 2017). Recibe su nombre por las papilas de tejido conjuntivo laxo formadas a causa del contorno ondulado de la epidermis (crestas de Rete) (Castell Rodríguez et al., 2010) (figura 6). En esta parte de la dermis, las fibras de colágeno tipo I y III combinadas con las fibras elásticas son delgadas y su arreglo es de forma suelta (Castell Rodríguez et al., 2010; Marks et al., 2018). Existe un plano horizontal de vasos que marca los límites entre la dermis papilar y la reticular, llamado plexo subpapilar (Chu, 2014).

### **Dermis reticular**

Constituye la masa principal de la dermis. Está compuesta principalmente por fibrillas de colágeno tipo I gruesas, organizadas en fascículos grandes y entrelazadas con fibras elásticas ramificadas que rodean a los fascículos. Esta zona está catalogada como tejido conjuntivo denso irregular (Castell Rodríguez et al., 2010; Chu, 2014; Marks et al., 2018).

### **Matriz fibrosa de la dermis**

Todas las fibras de colágeno y elastina presentes en la dermis conforman la matriz fibrosa (figura 9). Estos tejidos, a su vez, se combinan con la matriz extrafibrilar de la dermis formada por diferentes mucopolisacáridos (Castell Rodríguez et al., 2010; Chu, 2014; Marks et al., 2018).

Los colágenos tipo I y III son los principales constituyentes de la dermis y le proporcionan resistencia a la tensión y elasticidad; mientras que los colágenos tipo IV, VI y VII se encuentran en el espacio interfibrilar de la dermis, en la lámina basal de la UDE y en los apéndices de la epidermis. El tejido conjuntivo elástico forma una malla compleja desde la lámina densa de la UDE hasta el tejido conjuntivo de la hipodermis. Este tejido devuelve la piel a su normalidad después de haberse contraído o estirado. También se encuentran en las paredes de los vasos sanguíneos cutáneos y linfáticos así como en las vainas de los folículos pilosos (Chu, 2014; Lai-Cheong y McGrath, 2017; Losquadro, 2017; Marks et al., 2018).

## Matriz extrafibrilar de la dermis

Esta matriz está compuesta de una sustancia amorfa con consistencia de gel con glucoproteínas no filamentosas que forman complejos de proteoglicano-glucosaminoglucano; de esta manera se rellenan los espacios entre las fibras y se le da a la dermis una calidad más líquida, facilitando el movimiento de fluidos, moléculas y células inflamatorias (Castell Rodríguez et al., 2010; Chu, 2014; Marks et al., 2018) (figura 9).

El complejo proteoglicano-glucosaminoglucano puede contener hasta 1000 veces su propio volumen en agua y tienen un papel importante en la regulación de la hidratación y la compresibilidad de la dermis, así como en el aumento de las concentraciones locales de factores de crecimiento. Estas moléculas vinculan a las células dérmicas con la matriz fibrosa y de esta manera influyen en la proliferación, la diferenciación, la reparación de tejidos y la morfogénesis (Chu, 2014).

## Componentes celulares de la dermis

Las células que habitan permanentemente la dermis, principalmente en la región papilar y rodeando los vasos del plexo subpapilar son fibroblastos, macrófagos, células dendríticas dermales y mastocitos (Chu, 2014; Lai-Cheong y McGrath, 2017) (figura 9).

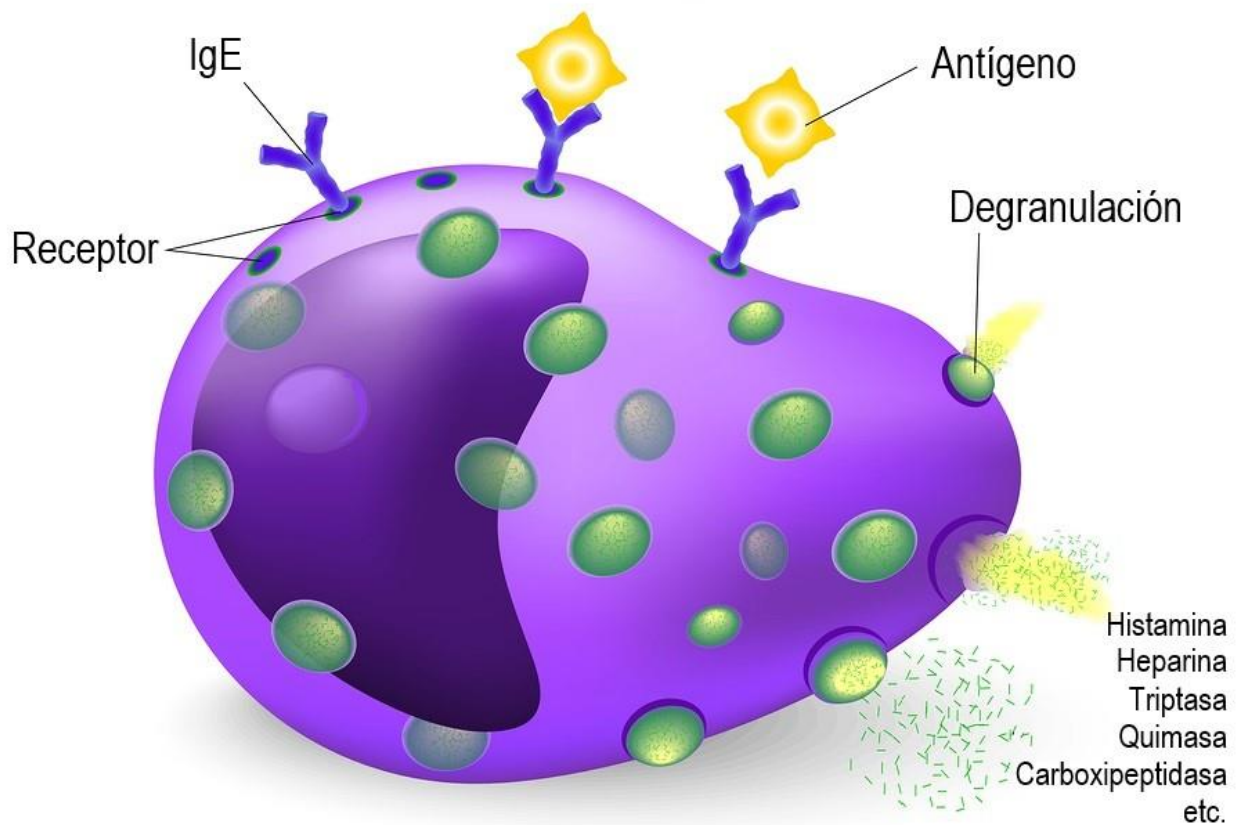
**Fibroblastos.** Son células fusiformes de núcleo ovalado, mesenquimales responsables de la síntesis y degradación de las proteínas de la matriz del tejido conjuntivo fibroso y no fibroso. Estas células proporcionan un marco estructural a la matriz extracelular y también promueven la interacción entre la epidermis y la dermis mediante la síntesis de mediadores solubles (Chu, 2014; Salazar Monsalve et al., 2010). Existen diferentes subpoblaciones de fibroblastos que contribuyen a la homeostasis de la piel, curación de heridas, cicatrización y la formación de folículos pilosos (Lai-Cheong y McGrath, 2017).

**Macrófagos.** Constituyen el sistema fagocítico mononuclear de las células de la piel. Los macrófagos derivan de la médula ósea, se diferencian en monocitos circulantes y luego migran a la dermis para diferenciarse. Son células fagocíticas; procesan y presentan antígenos a los linfocitos T para desencadenar una respuesta inmune específica (Chu, 2014; Salazar Monsalve et al., 2010). Son células de 25 a 39  $\mu\text{m}$  de

diámetro con un núcleo arriñonado y un gran número de lisosomas, tienen una vida media de dos meses. Son microbicidas, tumorocidas, secretoras, hematopoyéticas y participan en la coagulación, la aterogénesis, la curación de heridas y remodelación tisular (Chu, 2014; Salazar Monsalve et al., 2010).

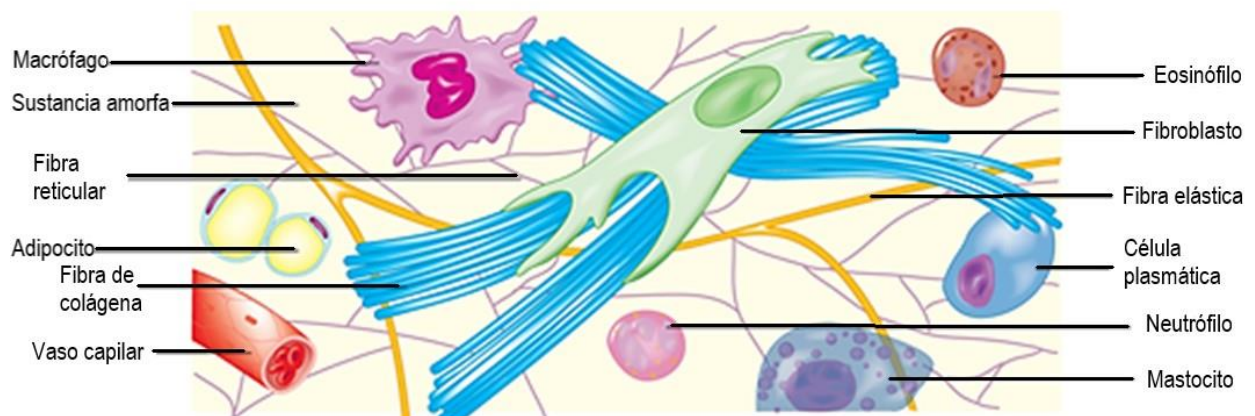
**Mastocitos.** Son células centinelas de la inmunidad innata, un papel para el que están perfectamente adecuadas ya que prevalecen justo en las zonas expuestas al medio ambiente como la piel, vías respiratorias y tracto gastrointestinal (Olivera et al., 2018). Estas células participan en la inflamación aguda, ya que sintetizan gránulos secretores de sustancias como histamina, heparina, triptasa, quimasa, carboxipeptidasa, factor quimiotáctico de neutrófilos y de los eosinófilos de la anafilaxia, los cuales favorecen la vasodilatación y la migración de células del sistema inmune al sitio en que se requiera (Salazar Monsalve et al., 2010; Chu, 2014). Además, los mastocitos de la piel han sido caracterizados por su habilidad para sintetizar, almacenar y liberar una gran cantidad de citocinas y otros mediadores como factores de diferenciación y crecimiento de queratinocitos, factores fibrogénicos y factores angiogénicos. Estas células son de larga vida y son capaces de degranularse y regranularse en repetidas ocasiones (Grimbaldeston et al., 2006).

En la piel, los mastocitos están presentes en gran densidad justo bajo la UDE en la dermis papilar, cerca de la UDE, en las vainas de los apéndices de la epidermis y alrededor de los vasos sanguíneos y nervios del plexo subpapilar (Chu, 2014). Los mastocitos derivan de células hematopoyéticas. Las células progenitoras de los mastocitos entran en la circulación sanguínea y migran a tejidos periféricos, una vez en estos tejidos, estas células completan su maduración bajo la influencia de factores microambientales locales y factor de células madre (STF por sus siglas en inglés) convirtiéndose en mastocitos maduros. De acuerdo con su localización (piel, vías respiratorias, mucosa gastrointestinal, etc) las poblaciones de mastocitos desarrollan diversas capacidades bioquímicas y funcionales (Grimbaldeston et al., 2006) (figura 8).



**Figura 7.** Esquematización de un mastocito (modificado de Fisher y Hendler, 2018).

**Dendrocitos dérmicos.** Son células dendríticas con intensa actividad fagocítica que actúan en la respuesta inmunitaria. Se encuentran fijas al tejido conjuntivo de la dermis de la piel normal. Estas células son abundantes en la dermis papilar y en la dermis reticular superior, frecuentemente cerca de los vasos del plexo subpapilar (Chu, 2014).



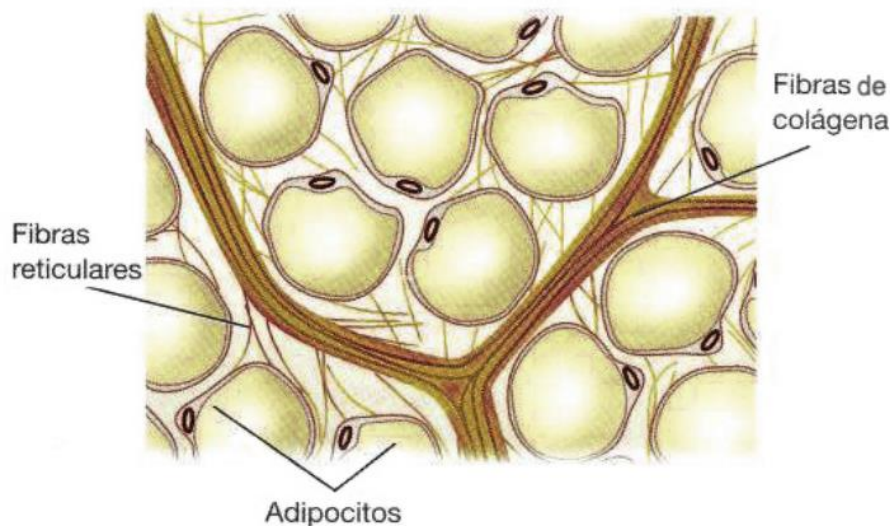
**Figura 8.** Componentes de la dermis (modificado de Sepúlveda Saavedra, 2012).



◦ Hipodermis o tejido subcutáneo

La hipodermis es una masa de tejido adiposo que ayuda a aislar el cuerpo del frío, protege a los tejidos más profundos y representa una importante reserva energética para el organismo. Además, tiene un efecto cosmético, ya que moldea los contornos del cuerpo (Chu, 2014; Marks et al., 2018).

El principal tipo celular de la hipodermis son los adipocitos que se encuentran organizados en lóbulos definidos por tabiques de tejido conjuntivo fibroso que les brindan sostén. Dentro de estos tabiques, se sitúan nervios y vasos sanguíneos y linfáticos que inervan, nutren y drenan la zona. En esta zona también se pueden encontrar fibroblastos, células endoteliales y macrófagos (Chu, 2014; Salazar Monsalve et al., 2010) (figura 10).



**Figura 9.** Estructura de la hipodermis o tejido subcutáneo (Espinosa-González, 2016).

El tejido adiposo se especializa en almacenar triglicéridos en los adipocitos como la principal estrategia de reserva energética. También es importante en la homeostasis energética y participa en la producción de hormonas como leptina (regulación del apetito y control metabólico) (Salazar Monsalve et al., 2010; Lai-Cheong y McGrath, 2017). Evidencia reciente indica la participación de células madre derivadas de tejido adiposo y su participación en la cicatrización de heridas, el soporte a los folículos pilosos y el crecimiento de pelo, así como su participación en la protección de la piel contra el fotoenvejecimiento (Marks et al., 2018).

- Vascularización cutánea

### **Vasos sanguíneos**

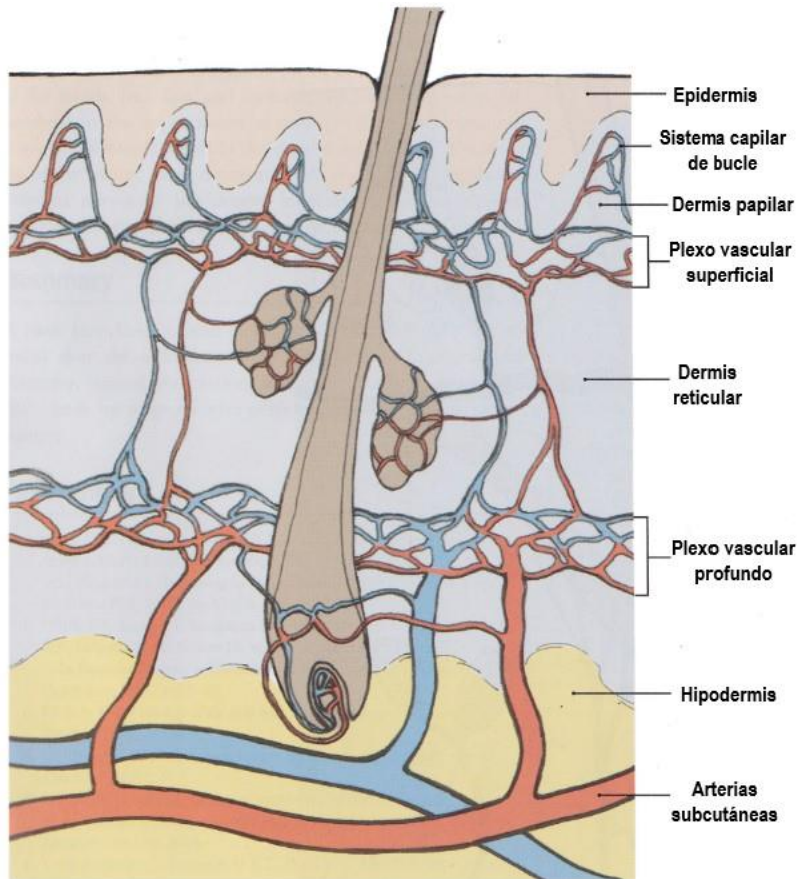
Los vasos sanguíneos de la piel se encuentran en la dermis, se encargan de proporcionar nutrientes al tejido, regular la temperatura, participar en la reparación de heridas y otros eventos inmunológicos. La epidermis y los apéndices cutáneos dependen de la difusión de nutrientes y oxígeno provenientes de los vasos sanguíneos de la dermis. Estos vasos poseen paredes gruesas de tejido conectivo y células musculares lisas que les permiten adaptarse a las fuerzas de cizallamiento (Chu, 2014; Marks et al., 2018) (figura 11).

La vasculatura cutánea tiene un arreglo en dos plexos horizontales interconectados y el aumento del flujo sanguíneo hacia alguno de los dos plexos es crucial para la regulación del calor corporal (Marks et al., 2018). En la unión de la dermis papilar y reticular, las arteriolas terminales forman un plexo subpapilar. Estas arteriolas poseen paredes más delgadas (con función de esfínteres precapilares) altamente sensibles a la histamina, lo que explica que en estos sitios se localicen células del sistema inmune durante el desarrollo de una respuesta inflamatoria (Chu, 2014).

### **Vasos linfáticos**

Los conductos linfáticos cutáneos son de gran importancia en la regulación del líquido intersticial ya que reabsorben el líquido liberado de los vasos y depuran los tejidos de células, proteínas, lípidos, bacterias y sustancias degradadas. Los vasos linfáticos poseen una gran luz y una pared delgada por lo que es difícil observarlos en los cortes histológicos. Estos vasos atraviesan la dermis comenzando en la dermis papilar y drenando finalmente en un plexo colector que se localiza entre la dermis reticular y la hipodermis (Chu, 2014) (figura 11).

El movimiento del líquido linfático está sujeto a las pulsaciones arteriales, contracciones musculares y movimientos corporales, en conjunto con un sistema de válvulas que se encuentran dentro de los vasos y que evitan el flujo linfático en sentido contrario (Chu, 2014).

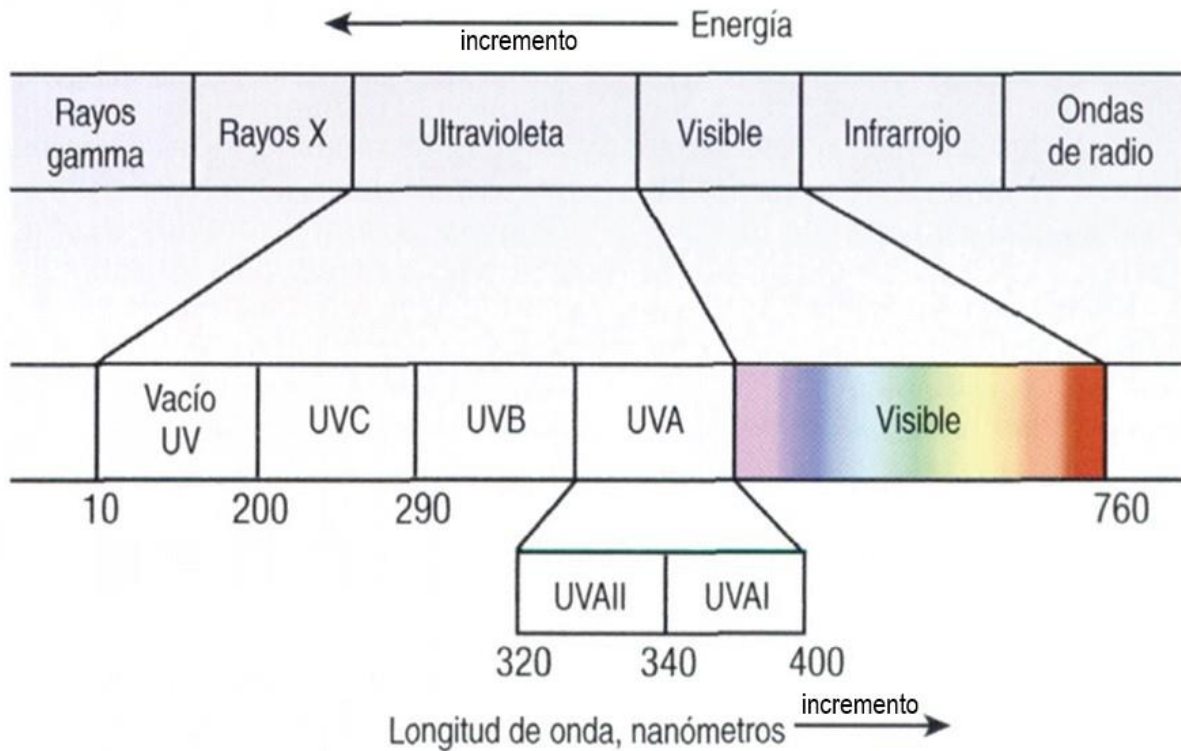


**Figura 10.** Esquematización de la vasculatura dérmica (Losquadro, 2017).

### 3.2 ENERGÍA PROVENIENTE DEL SOL

La energía proveniente del Sol, es liberada al espacio y se puede clasificar en un espectro de radiación electromagnética dependiendo de su longitud de onda (Maverakis et al., 2010). La energía de un fotón es inversamente proporcional a la longitud de onda que describe. Con base en lo anterior, el espectro de radiación electromagnética se organiza por la disminución de la longitud de onda (Wharton y Cockerell, 1998; Maverakis et al., 2010).

El espectro electromagnético está conformado por ondas de radio, microondas, radiación infrarroja, luz visible, radiación ultravioleta (RUV), rayos X y rayos gamma (Maverakis et al., 2010) (figura 12).



**Figura 11.** Espectro electromagnético (modificado de Chu, 2014).

Las radiaciones que inciden de manera continua en nuestro planeta son la infrarroja, luz visible y RUV (Baron y Suggs, 2014). Esta energía es necesaria para la existencia de la vida en la Tierra (Reyes y Vitale, 2013). La intensidad de la radiación depende de una variedad de factores como altitud, latitud, estaciones del año, hora del día y nubosidad, contaminación, entre otros (Goettsch et al., 1998; Baron y Suggs, 2014).

### 3.2.1 Radiación ultravioleta

La RUV comprende longitudes de onda que van desde los 200 a los 400 nm. Para hacer más eficiente su estudio, se le ha dividido en tres categorías: RUV-C de 200 a 280 nm, RUV-B de 280 a 320 nm y RUV-A de 320 a 400 nm (Afaq, 2011). La RUV-A, conocida también como luz negra, a su vez se subdivide en UVAI de los 340 a 400 nm y UVAII de los 320 a 340 nm (Reyes y Vitale, 2013; Shea y He, 2014) (figura 13).

Del 100% de la RUV que incide en la superficie terrestre, la RUV-A conforma el 95% y la RUV-B el 5% restante. La RUV-C es retenida en la atmósfera, lo que es favorable para la vida en la Tierra, ya que esta radiación posee la longitud de onda más corta y energética del espectro de la RUV, lo que la convierte en energía ionizante (Wharton y

Cockerell, 1998; Kochevar et al., 2014; Shea y He, 2014). Sin embargo, con el adelgazamiento de la capa de ozono gracias a la liberación de clorofluorocarbonos al ambiente, se ha registrado un aumento en la RUV incidente en la superficie terrestre, incluso de RUV-C (Wharton y Cockerell, 1998; García-Bores y Avila, 2008).

- Actividad de la RUV sobre los seres vivos

La RUV es el área del espectro electromagnético más energético que incide en la Tierra. Esta energía puede ser transferida a los sistemas biológicos que entren en contacto con ella (Wharton y Cockerell, 1998; Baron y Suggs, 2014).

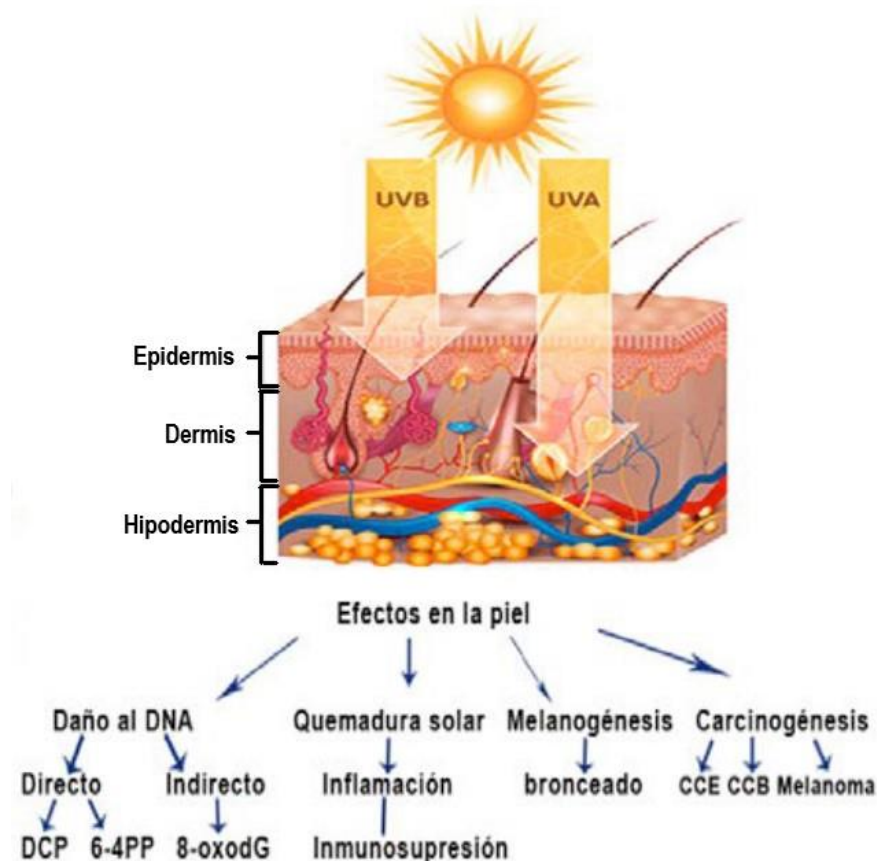
El efecto de la RUV es evaluado sobre plantas superiores, microorganismos, respuesta eritematogena en modelos animales, y la fotocarcinogénesis cutánea en humanos. Se han observado cambios en las plantas como reducción en el área foliar, pesos seco y fresco, contenido lipídico y disminución en la actividad fotosintética, como resultado de la ávida absorción de la RUV por moléculas como plastoquinona y plastoquinol -importantes en la fotosíntesis-. Además, en humanos es evidente la absorción y daño al ADN. En todas estas evaluaciones, es evidente el aumento en el efecto de la RUV a medida de que su longitud de onda disminuye (Kohen, Santus, y Hirschberg, 1995).

### **3.3 LA RUV Y LA PIEL**

La piel es el órgano que más se expone a la RUV (García-Bores y Avila, 2008). Esta radiación es importante para procesos biológicos como la producción de vitamina D3 y la regulación del ciclo circadiano, además de que proporciona una sensación de bienestar y vitalidad a quien la recibe. Sin embargo, exponerse en exceso a la luz solar, especialmente a la RUV, tiene consecuencias sobre la salud humana (Afaq y Katiyar, 2012; Kochevar et al., 2014) (figura 13).

Una vez que la RUV entra en contacto con la piel, sus fotones pueden ser reflejados, dispersados o absorbidos. La dispersión de la RUV se da por la desviación de su energía, la mayor parte de la dispersión se lleva a cabo en la dermis gracias a la presencia de colágeno. Este fenómeno es dependiente de la longitud de onda (las longitudes de onda

más largas, penetrarán con mayor facilidad) (Baron y Suggs, 2014; Kochevar et al., 2014).



**Figura 12.** Incidencia de la RUV en la superficie terrestre y su interacción con la piel. DCP: Dímeros de Ciclobutano—Primidina, 6-4PP: Fotoproductos 6-4, 8-oxodG: 8-deoxiguanina, CCE: Cáncer de células escamosas, CCB: cáncer de células basales (Espinosa-González, 2016).

La RUV sólo puede tener un efecto biológico si es absorbida por moléculas cutáneas llamadas “cromóforos” que tienen un rango de absorción de energía específico. Los cromóforos, al absorber la RUV, pasan a un estado excitado singulete, es decir, que sus electrones pasan al siguiente nivel energético de forma inestable y transitoria. La energía del estado singulete puede liberarse a través de un mecanismo llamado conversión interna por vibración espontánea (generando calor) o por reemisión de radiación (fluorescencia o fosforescencia). De forma alternativa, la molécula en estado singulete puede sufrir una reacción química para formar un fotoproducto o puede pasar al estado triplete de energía más baja por medio de un mecanismo llamado cruce de sistemas. El estado triplete tiene una mayor duración y puede emitir luz, sufrir reacciones químicas o regresar al estado basal por cruce de sistemas. Los fotoproductos formados a partir de las reacciones de moléculas en estado excitado, son las responsables de los efectos biológicos de la RUV (Baron y Suggs, 2014; Shea y He, 2014).

Los cromóforos que absorben la RUV pueden ser componentes celulares y/o moleculares como bases del ADN que absorben directamente la RUV-B, melanina, ácido urocánico, aminoácidos, lípidos, 7-dehidrocolesterol (un precursor de la vitamina D), porfirinas, pigmentos de tatuajes, fármacos fotosensibilizantes, hemoglobina, entre otros (Baron y Suggs, 2014).

### 3.3.1 Efectos agudos en la piel inducidos por la RUV

La reacción cutánea aguda comienza a las 3 a 6 horas de haber sido expuesta a una cantidad considerable de RUV. La piel desarrolla una respuesta inflamatoria aguda con dolor, calor y enrojecimiento llamada eritema a causa de la dilatación de los vasos sanguíneos cutáneos. El punto máximo de esta respuesta es a las 12-24 horas y desaparece a las 48 horas posteriores a la exposición a la RUV. Si la dosis de RUV recibida aumenta, se produce hinchazón y ampollamiento (Sarkany, 2011; Shea y He, 2014).

Los efectos agudos de la RUV sobre la piel dependen en gran medida de la presencia de melanina ya que la pigmentación de la piel es la principal defensa ante la RUV. Esta respuesta ocurre en dos fases: la pigmentación inmediata y transitoria es inducida con mayor eficiencia por la RUV-A y se da por la oxidación y redistribución de la melanina preformada. Por otro lado, la pigmentación retardada, se observa alrededor de una semana después de la irradiación, involucra la síntesis de melanina *de novo* por los melanocitos, que al ser expuestos a la RUV (principalmente la RUV-B), aumentan su proliferación y su actividad metabólica (Sarkany, 2011; Shea y He, 2014).

- Cambios histológicos agudos

Histológicamente, 30 minutos después de la exposición a la RUV son notables los queratinocitos apoptóticos o células de quemadura, que son fácilmente reconocibles por su forma redonda, sus núcleos picnóticos que presentan la condensación de la cromatina nuclear y citoplasmas eosinófilos. El número de estas células incrementa hasta alcanzar su punto máximo a las 24 h después de la exposición a la RUV y a las 72 h forman una banda protectora en el estrato córneo (Kochevar et al., 2014).

La aparición de las células de quemadura, es un mecanismo de protección para la piel, ya que de esta manera, los queratinocitos que no se han reparado exitosamente, se eliminan y así se evita su transformación a células cancerosas (Claerhout et al., 2006; Sarkany, 2011). Aunado a las células de quemadura, se desarrolla edema intraepidérmico o espongiosis por la acumulación de líquido entre los queratinocitos. Esta señal inflamatoria se presenta rápidamente y desaparece a las 27 h posteriores de la exposición a la RUV (Kochevar et al., 2014).

La RUV altera la proliferación celular, favoreciendo el engrosamiento de la epidermis -principalmente el estrato córneo- y la presencia de queratinocitos atípicos o pleomórficos. Esta alteración le da protección a las estructuras más profundas de la piel durante algunas semanas (Sarkany, 2011; Reyes y Vitale, 2013). Adicionalmente a este proceso, y de manera casi inmediata a la exposición a la RUV-B, los procesos de síntesis de macromoléculas -como ADN y proteínas- y división celular se ven afectados por la formación de fotoproductos en el ADN a causa de la RUV. Seguido de este periodo de inhibición, se produce una tasa acelerada de síntesis y de proliferación celular, lo que conlleva a la descamación una semana después de la exposición a la RUV (Shea y He, 2014).

La dermis presenta tumefacción de las células endoteliales a los 30 min de haber recibido la radiación y persiste hasta las 72 h posteriores. También se presenta edema perivascular y degranulación de los mastocitos. La infiltración de neutrófilos tiene lugar a los pocos minutos de la exposición a la RUV y a las 14 h alcanza su intensidad máxima. Un infiltrado de macrófagos se presenta de forma tardía y persiste durante 48 h (Kochevar et al., 2014).

### 3.3.2 Inflamación producida por la exposición aguda a la RUV

La inflamación es un proceso normal y benéfico para el organismo, en el que un grupo de mecanismos responden a una agresión física, infecciosa, química o autoinmune con la finalidad de aislar y destruir la agresión (Cano et al., 2015).

Los mastocitos son las células centrales del proceso inflamatorio inducido por la RUV. Por su localización y almacenamiento de mediadores inflamatorios preformados, estas células pueden estimular una rápida y vigorosa repuesta inflamatoria, ya que responden



al fotoproducto ácido *cis*-urocánico, liberando el mediador inflamatorio más importante: la histamina, que induce vasodilatación e incremento de la permeabilidad capilar y facilita el ingreso al tejido de células y moléculas proinflamatorias como neutrófilos, macrófagos y linfocitos , que inician una cascada de citocinas que favorece el desencadenamiento, progresión y regulación de la respuesta inflamatoria (Grimbaldeston et al., 2006; Reyes y Vitale, 2013).

El proceso inflamatorio consta de tres fases: inflamación, consolidación y resolución. En la iniciación, los macrófagos y polimorfonucleares liberan factores y mediadores inflamatorios que activan el endotelio de los vasos sanguíneos dérmicos y los mastocitos cercanos, que a su vez liberan histamina, lo que refuerza la activación del endotelio. En la fase de consolidación, los linfocitos y macrófagos son inducidos a unirse al endotelio gracias a la expresión de moléculas de adherencia y quimiocinas para, posteriormente migrar al tejido. Finalmente, la resolución ocurre con la interacción entre macrófagos y fibroblastos para la reparación de los daños ocasionados por la RUV. Este proceso termina en apoptosis de las células participantes. Si la resolución no se lleva a cabo adecuadamente, los fibroblastos sobreproducen factores proinflamatorios que retienen *in situ* a las células inflamatorias, la inflamación se prolonga por un tiempo fuera de lo normal y se desarrollan padecimientos como cáncer, que pueden ser letales (Cano et al., 2015).

El mecanismo de la respuesta inflamatoria inducida por la RUV-A difiere del inducido por la RUV-B, debido al espectro de acción de cada longitud de onda. El espectro de acción indica qué longitud de onda es requerida para inducir un efecto biológico, en este caso eritema, que corresponde al de la RUV-B. El tiempo de exposición a la luz solar requerido para desarrollarlo está sujeto a factores como la pigmentación cutánea, la localización geográfica, la estación del año, la hora del día, nubosidad, etc. (Kochevar et al., 2014).

La respuesta inflamatoria aguda se desarrolla de 3 a 5 h posteriores a la irradiación, alcanza su punto máximo a las 12 a 24 h y decae a las 72 h, pero si la radiación es más intensa, la respuesta se manifiesta en menor tiempo y con mayor impacto (Kochevar et al., 2014).

La absorción de la RUV por los cromóforos cutáneos es determinante para la producción y/o activación de mediadores inflamatorios. El espectro de acción de la RUV-B

corresponde al espectro de absorción de las bases nitrogenadas del ADN, lo que indica que las modificaciones estructurales ocasionadas por la RUV desencadenan las vías bioquímicas que inician la respuesta inflamatoria. Además del ADN, existen otros cromóforos esenciales para el desarrollo de la inflamación, tal es el caso del triptófano, que induce que desencadena la expresión de la enzima proinflamatoria ciclooxigenasa 2 (COX-2) (Kochevar et al., 2014).

La enzima COX es clave en la síntesis de prostaglandinas por medio de la oxidación de ácido araquidónico. Las prostaglandinas realizan funciones relacionadas con la homeostasis de diversos órganos, pero también participan en la inducción de dolor, inflamación y el desarrollo de neoplasias. La COX-2 regula la producción de prostanoides que participan en procesos inflamatorios y no inflamatorios tanto fisiológicos como patológicos (García Meijide y Gómez-Reino Carnota, 2000). Al estar implicada en la inflamación inducida por la RUV y en el desarrollo de la fotocarcinogénesis cutánea, se ha demostrado que la sobreexpresión de COX-2 favorece la proliferación celular, induce angiogénesis, regula las defensas celulares antiapoptóticas y aumenta la respuesta inmunológica a través de la producción de la prostaglandina E-2 (PGE<sub>2</sub>). Por lo tanto, la inhibición de la expresión o actividad de esta enzima es importante como mecanismo antiinflamatorio y estrategia anticáncer (Afaq et al., 2010).

Las prostaglandinas y el óxido nítrico (NO) son mediadores clave para el desarrollo de la respuesta inflamatoria inducida por la RUV-B. La PGE<sub>2</sub> se presenta en etapas tempranas de la respuesta inflamatoria, además de numerosos eicosanoides proinflamatorios y antiinflamatorios. Las prostaglandinas vasodilatadoras (PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub> y PGE<sub>3</sub>) aparecen a las 24-48 h posteriores a la irradiación y las moléculas quimiotácticas para leucocitos (ácido 11-monohidroxeicosatetraenóico [11-HETE], 12-HETE y 8-HETE) se hacen presentes 4-72 h más tarde (Kochevar et al., 2014).

La piel expuesta a la RUV presenta un aumento en citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 e IL-8 a las 4 h de la exposición y con su punto máximo a las 15h. Estas citocinas influyen en el reclutamiento de leucocitos y en la inducción de moléculas de adhesión celular que facilitan la infiltración de estas células al área de la piel expuesta a la RUV (Kochevar et al., 2014).

### 3.3.3 Estrés oxidativo inducido por la RUV

La exposición de la piel a la RUV induce la formación de radicales libres (RL) y ERO, lo que conduce a un estado de estrés oxidativo. En la inflamación por la RUV-A, se presentan algunas ERO, que son responsables de la activación de la fosfolipasa A<sub>2</sub>, que libera ácido araquidónico de los lípidos de membrana (Kochevar et al., 2014). Por esta razón, la piel cuenta con mecanismos antioxidantes controlar la cantidad de ERO y evitar el estrés oxidativo (Reyes y Vitale, 2013).

Los RL afectan componentes celulares como proteínas, lípidos y ADN, generando una cadena de daños celulares como peroxidación lipídica lo que provoca la pérdida de la estabilidad de la membrana celular, la oxidación y glicosilación de proteínas y la alteración del ADN nuclear y mitocondrial; estos daños inducen la formación de más ERO, daño tisular y finalmente el desarrollo de fotoenvejecimiento, cáncer de piel y otros padecimientos ( Witt et al., 1993; Liu et al., 2011; Reyes y Vitale, 2013).

Algunos fármacos o colorantes que se encuentran sobre la piel y que absorben la RUV o la luz visible, generan eritema o inflamación; estos son fotosensibilizadores (Kochevar et al., 2014). En el proceso de fotosensibilización, algunas sustancias liberan ERO y especies reactivas de nitrógeno (ERN). Las ERO inducidas por la RUV son radical hidroxilo, anión superóxido, radical peroxilo, oxígeno singulete, peróxido de hidrógeno y ozono. Mientras que las ERN son óxido nítrico (NO), dióxido nítrico y peroxinitrito (ONOO) (Orciani et al., 2010; Saewan y Jimtaisong, 2012).

El NO formado por la acción de la RUV interactúa con el superóxido para formar peroxinitrito, molécula sumamente tóxica ya que puede reaccionar directamente con el ADN, activar polimerasas y reducir la formación de ATP. Además, el NO tiene un papel importante en el inicio de la melanogénesis, la formación de eritema por su capacidad vasodilatadora y en la inmunosupresión (Reyes y Vitale, 2013).

Las ERO se generan constantemente en los queratinocitos y fibroblastos, son rápidamente removidos por los sistemas antioxidantes enzimáticos (catalasa, superóxido dismutasa, tiorredoxin reductasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa) y no enzimáticos (ácido ascórbico, tocoferol, ubiquinol y glutatión), de esta manera se mantiene el balance entre antioxidantes y prooxidantes. Sin embargo, si la producción

de prooxidantes sobrepasa la de antioxidantes, se genera un ambiente oxidante y la integridad celular se ve comprometida (Saewan y Jimtaisong, 2012).

Las ERO generadas por la RUV actúan indirectamente sobre mecanismos en cascada, afectando los niveles y funciones de factores de transcripción y proteínas señalizadoras como proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK), p53, factor nuclear 2 (Nrf2), proteína Keap1, proteína activadora (AP-1) y el factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) que pueden contribuir a la inducción de hemo oxigenasa-1 (HO-1) y metaloproteinasas de matriz (MMPs) en la piel. La producción de HO-1 puede elevar los niveles de hierro y esto puede inducir una mayor producción de ERO. El incremento en las MMPs conlleva a la degradación de la matriz extracelular, lo que facilita el progreso de la fotocarcinogénesis cutánea a través de la metástasis (Orciani et al., 2010; Saewan y Jimtaisong, 2012) (figura 16).

### 3.3.4 Daño a ADN inducido por la RUV

El ADN es uno de los cromóforos más importantes de la piel ya que su espectro de absorción corresponde a la longitud de onda de la RUV-B (Kochevar et al., 2014). Al absorber esta radiación, el ADN puede sufrir daños como rompimiento de cadena simple, enlaces cruzados entre ADN y proteínas, rompimiento de doble cadena, entre otros (Ogura y Sugiyama, 1993).

Los daños más frecuentes son los dímeros de pirimidina-ciclobutano (CPD) y los fotoproductos 6-4 (6-4PP). Los CPD son formados por dos enlaces covalentes entre dos pirimidinas adyacentes que resulta en un anillo rígido de 4 carbonos. Los 6-4PP se forman por la unión covalente entre pirimidinas adyacentes. Las rupturas de doble cadena, de cadena simple y los enlaces cruzados pueden ser producidos directamente por la RUV o por el resultado del metabolismo celular posterior a esta. Estas lesiones son altamente citotóxicas y si persisten, pueden generar aberraciones cromosómicas y transformar los queratinocitos en células malignas (Schuch et al., 2017).

La RUV-A induce reacciones de fotosensibilización que producen ERO, de las cuales, particularmente el anión superóxido, oxida selectivamente la guanina del ADN, lo que produce daños conocidos como 8-oxo-7,7-dihidroguanina (8-oxoG) (Schuch et al., 2017).

La RUV puede generar daños oxidativos indirectamente al ADN. Como consecuencia de la peroxidación lipídica inducida por ERO, se producen aldehídos insaturados que tienen la habilidad de formar aductos mutagénicos en el ADN. Además, la RUV-A puede inducir la formación de CPD después de 3 h de irradiación gracias a la formación de anión superóxido y NO que producen un aumento en la concentración de peroxinitrito. El peroxinitrito, eleva a un estado triplete a los derivados de melanina con la energía de un fotón de RUV que transfiere su energía al ADN y así se generan CPD sin la necesidad de la presencia de la RUV (Schuch et al., 2017).

El daño al ADN y la oxidación de proteínas induce proteínas hiperactivas o la formación de enlaces cruzados con el ADN. Además, pueden afectar procesos celulares como la reparación del ADN, replicación o transcripción. Esto puede tener como consecuencia la inhibición de citocinas antiinflamatorias, incrementar la producción de citocinas inmunosupresoras o favorecer la producción de MMPs. Se reclutan diferentes enzimas y proteínas que forman complejos reparadores del ADN como el de reparación por escisión de nucleótidos (NER) y el de reparación por escisión de bases (BER) que eviten estas consecuencias (Baron y Suggs, 2014; Schuch et al., 2017).

NER repara los daños voluminosos o aductos en el ADN como los CPDs. BER repara los daños generados en las bases como 8-oxoG. Durante la reparación o replicación se pueden producir algunos errores como la adición de bases incorrectas. Gran parte de estos errores no son fatales, sin embargo, si estos errores se dan en oncogenes o en genes supresores de tumor como p53, se favorecerá el desarrollo de fotocarcinogénesis cutánea (Nishigori, 2006; Baron y Suggs, 2014) (figura 14).

### 3.3.5 Efectos crónicos en la piel inducidos por la RUV

La acumulación de daños agudos a través de los años resulta en alteraciones crónicas y progresivas como fotoenvejecimiento, inmunosupresión y cáncer de piel (García-Bores y Avila, 2008).

El fotoenvejecimiento se refiere a los efectos de la radiación solar a largo plazo sobrepuesto al envejecimiento intrínseco de la piel. Los signos del fotoenvejecimiento son despigmentación, piel laxa, tono amarillento, arrugas, telangiectasia (vasos

sanguíneos visibles), aspecto coriáceo y neoplasias cutáneas. Histológicamente, la epidermis pierde su polaridad y los queratinocitos presentan rasgos atípicos. El grosor de la epidermis tiende a aumentar con el paso de los años y en la dermis, los fibroblastos colapsan, se elongan y proliferan. La cantidad de elastina incrementa en proporción a la radiación recibida y reemplaza al colágeno. Los infiltrados inflamatorios abundan en la dermis y la vasculatura cutánea también es alterada por la exposición crónica a la RUV y las paredes de los vasos sanguíneos se engrosan (Rabe et al., 2006).

Después de exposiciones crónicas a la RUV, se induce inmunosupresión, mecanismo que involucra componentes celulares y moleculares. Las células de Langerhans son más sensibles a la RUV que los queratinocitos, por lo que, antes de la aparición de las células de quemadura, las células de Langerhans ya se han alterado o perdido completamente. Esto evita el reconocimiento inmune de los antígenos liberados por los queratinocitos en apoptosis. La pérdida de las células de Langerhans es originada por tres eventos inducidos por la RUV: apoptosis, migración hacia los nódulos linfáticos y cambios morfológicos en estas células lo que imposibilita sus procesos dendríticos. Por lo tanto, después de la pérdida dramática en el número de células de Langerhans en la epidermis, las células restantes pierden su capacidad de presentar antígenos (Maverakis et al., 2010).

La parte molecular de la inmunosupresión se debe a mediadores inflamatorios como la IL-10 que es una citocina antiinflamatoria que puede inhibir la producción de citocinas proinflamatorias como IFN- $\gamma$  y también la expresión de MCH clase II de superficie y moléculas importantes para la activación de las células T y el reconocimiento de antígenos. Esta interleucina es secretada, en parte, por los queratinocitos después de la exposición a la RUV y en mayor proporción por los macrófagos infiltrados a la dermis que llegan a las 6 h después de recibir la radiación (Maverakis et al., 2010).

El ácido urocánico es otra molécula importante para inmunosupresión, ya que al exponerse a la RUV, sufre una fotoisomerización del ácido trans-urocánico a cis-urocánico y altera la actividad de las células de Langerhans y los mastocitos (García-Bores y Avila, 2008; Reyes y Vitale, 2013). Además se ha demostrado que la actividad inmunosupresora del ácido trans-urocánico está mediada por su interferencia con el mecanismo de reparación de daños a ADN (Elmets et al., 2014).

Una vez que la piel sufre fotoenvejecimiento e inmunosupresión, se genera un ambiente inmunológicamente permisivo para el desarrollo de lesiones premalignas y posteriormente cáncer de piel (Duncan et al., 2003). El cáncer de piel es de dos tipos: melanómico y no melanómico. Este último a su vez se divide en: carcinoma de células escamosas y carcinoma de células basales. El cáncer de piel de tipo melanómico es el menos común, sin embargo, es el más peligroso, mientras que los otros dos tipos de cáncer son menos agresivos para la salud (Sarkany, 2011).

El desarrollo de cáncer de piel es un proceso de múltiples eventos, en el que el tiempo de exposición y la intensidad de la longitud de onda a la que se está expuesto son factores determinantes. Este proceso conlleva tres etapas: iniciación, promoción y progresión mediados por alteraciones en celulares, bioquímicas y moleculares (Afaq y Katiyar, 2012).

### **3.4 FOTOPROTECCIÓN**

Como se revisó anteriormente, la RUV produce efectos adversos para la salud, por lo tanto, es importante la implementación de estrategias para combatir estas amenazas. La fotoprotección es una estrategia que incluye el uso de ropa y accesorios que eviten la incidencia de la radiación sobre la piel además del uso de un fotoprotector tópico adecuado (Sarkany, 2017).

Los fotoprotectores están hechos con moléculas que absorben, reflejan o dispersan los fotones de la RUV. Un fotoprotector ideal debe prevenir, disminuir y/o reparar los daños inducidos por la RUV por medio de la absorción de los fotones, inhibición de la inflamación crónica, modulación de la inmunosupresión, inducción de apoptosis y de su actividad antioxidante (Gilaberte y González, 2010).

La FDA (Food and Drug Administration) determinó una prueba de amplio espectro para los fotoprotectores tópicos, de esta manera se asegura la protección contra RUV-B y RUV-A, permitiendo la exposición a la luz solar por un tiempo más prolongado. Algunos fotoprotectores contienen óxido de zinc y dióxido de titanio con la finalidad de opacar la mezcla y proveer mayor protección contra el espectro solar completo; sin embargo, estos protectores pueden ser rechazados por su aspecto poco estético (Shea y He, 2014).

La eficacia de los fotoprotectores está expresada por el factor de protección solar (SPF). Este criterio se define como la cantidad de RUV necesaria para producir la dosis eritematogena mínima (DEM: la cantidad de radiación necesaria para inducir eritema dentro de 24 h) en la piel protegida, dividida entre la cantidad de RUV necesaria para el desarrollo de DEM en piel no protegida. Mientras mayor sea el SPF, el fotoprotector ofrece más protección contra las quemaduras solares (Ebrahimzadeh et al., 2014).

### 3.4.1 Productos naturales

Las plantas producen una gran variedad de compuestos orgánicos que no se involucran completamente en el crecimiento y desarrollo de esta (Buchanan et al., 2000). Estos compuestos son el resultado del metabolismo secundario de la planta y son producidos como una respuesta específica de los organismos hacia alguna señal de su entorno lo que contribuye al éxito evolutivo de la especie ya que la síntesis de metabolitos antioxidantes y fotoprotectores les facilita el proceso de adaptación al medio (Saewan y Jimtaisong, 2012).

En materia de fotoprotección, existe un gran interés en los productos naturales de origen vegetal ya que tienen potencial como fotoprotectores, antioxidantes, antiinflamatorios, antimutagénicos, anticarcinogénicos, inmunomoduladores, etc. Estos agentes naturales han adquirido una gran popularidad por su actividad biológica, por la seguridad al utilizarlos tópicamente, ingerirlos oralmente y por ser de bajo costo (Afaq, 2011).

Un rasgo característico de las moléculas con capacidad fotoprotectora es poseer enlaces  $\pi$  en sistemas conjugados que pueden estar presentes en moléculas lineales y en muchos compuestos cíclicos y aromáticos con resonancia electrónica. Los principales productos naturales con estas características son los polifenoles (Saewan y Jimtaisong, 2012).

Los polifenoles son compuestos aromáticos con uno o varios grupos hidroxilo libres o sustituidos unidos al anillo fenólico. El fenol es la estructura básica de estos compuestos (Buchanan et al., 2000; Piñol et al., 2008). Los principales grupos de compuestos fenólicos son: fenilpropanoides, flavonoides, estilbenos y fenólicos simples (Menaar y Menaar, 2013). La mayoría de los polifenoles son pigmentos amarillos, rojos o morados

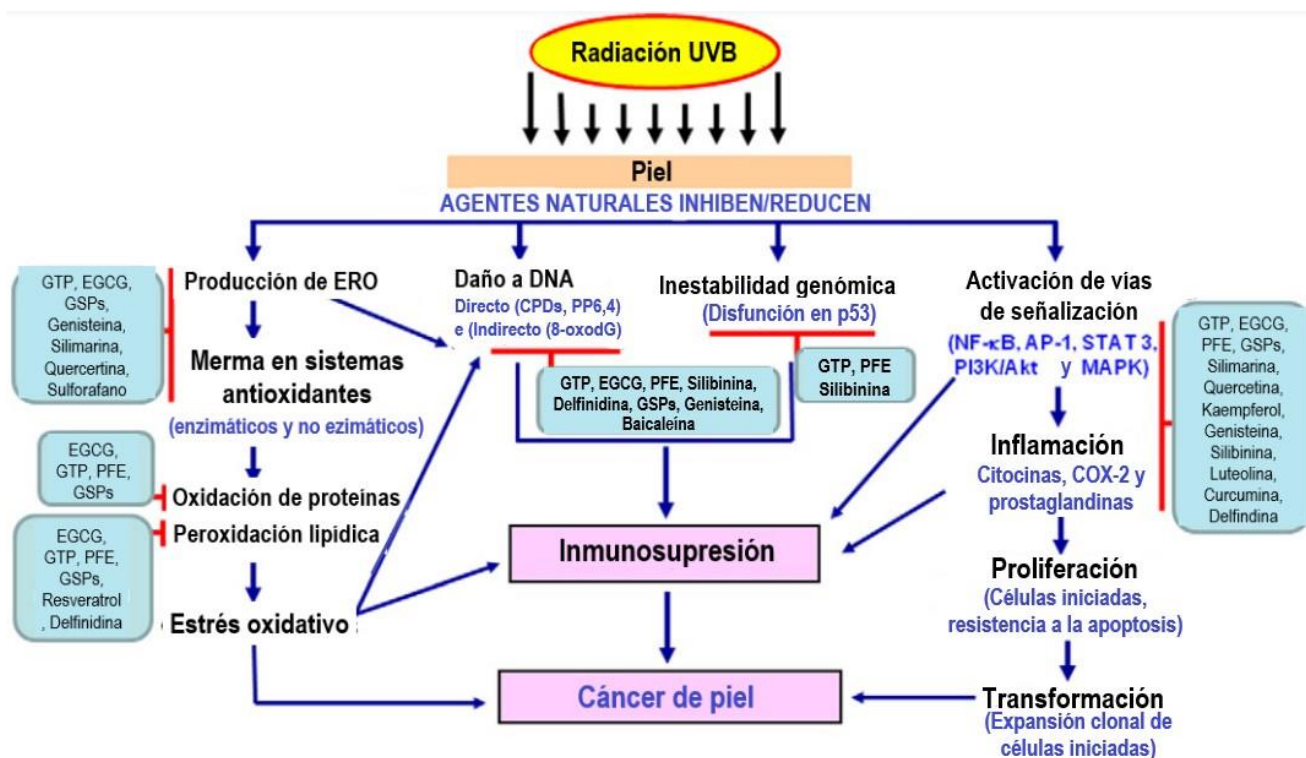


que pueden absorber la RUV ya que su espectro de absorción equivale a la longitud de onda de RUV-B y RUV-A.

Los polifenoles tienen diferentes efectos benéficos para aquel que los consume, como su actividad antiinflamatoria, anticancerosa y antioxidante. Tienen la capacidad de quelar iones metálicos gracias a sus grupos hidroxilo, lo que refuerza su actividad protectora contra el estrés oxidativo. Se han reportado numerosos estudios sobre la actividad protectora de los polifenoles contra afecciones cutáneas por RUV, virus, bacterias y hongos, y sobre su actividad sobre vías de transducción de señales importantes en el organismo. Estas actividades son favorecidas o mermadas por modificaciones estructurales como metoxilaciones y glicosilaciones (Halake et al., 2016).

Por lo tanto, cuando se aplican tópicamente, evitan la penetración de la radiación en la piel actuando como pantalla solar. Esta característica provoca la reducción de la inflamación, estrés oxidativo y daño al ADN inducidos por la RUV en la piel (Nichols y Katiyar, 2010). La aplicación tópica de polifenoles como fotoprotectores tiene ventajas como la exposición local a la sustancia lo que conlleva el incremento en la eficacia, maximización de la dosis administrada, favorecimiento de la viabilidad para el sitio deseado y la reducción de la toxicidad sistémica (Menaar y Menaar, 2013).

Los polifenoles más estudiados provienen de frutos como granada, uvas, moras azules, fresas, soya, de semillas como el café, de hojas como el té verde, helechos líquenes y de otros productos como la miel (Saewan y Jimtaisong, 2012). Sin embargo, se continúa en la búsqueda de polifenoles con mayor potencial como fotoquimioprotectores y con una mejor biodisponibilidad.



**Figura 13.** Efectos adversos de la RUV sobre la piel y algunos productos naturales con actividad protectora. GTP: polifenoles del té verde; EGCG: epigallocatequina-3-galato; PFE: extracto del fruto de granada; GSPs: proantocianidinas de semilla de uva (Modificado de Afaq, 2011).

- *Dyssodia tagetiflora*

*D. tagetiflora* es una planta perteneciente a la familia Asteraceae. Se le conoce comúnmente como “Tzaracata” en la lengua purépecha, “colado” o “flor de muerto”. Es endémica de México, se encuentra principalmente en los estados de Guanajuato, Querétaro y el norte de Michoacán a una altura de 1600-2200 msnm (figura 14) (Villarreal-Quintanilla et al., 2008; Sánchez-Blanco y Guevara-Féfer, 2013).

El género *Dyssodia* comprende cerca de 32 especies. Está reportado el uso de este género contra enfermedades del riñón, vejiga, malestar estomacal. Especies como *D. papposa* es utilizada contra dolores de cabeza y fiebre (Shemluck, 1982); *D. micropoides* es reconocida por su actividad hipoglucémica y *D. papposa* por la actividad antifúngica contra el hongo *Trichophyton mentagrophytes* y citotóxica en líneas celulares de diferentes tipos de cáncer (Gutierrez-Lugo et al., 1996).

Estudios recientes confirman la presencia de compuestos como avicularina, quercetina e hiperósido en el extracto metanólico de *D. tagetiflora* (García-Bores et al., 2018). Estos

compuestos son reconocidos por su actividad antioxidante y antiinflamatoria (Williams et al., 2004; Choi et al., 2011; Vo et al., 2012; Ku et al., 2014; Wang et al., 2016). Además, está reportado que el extracto metanólico de *D. tagetiflora* tiene un máximo de absorción a 365 nm, lo que corresponde al rango energético de la RUV (Reyna-Campos, 2018), por lo cual, esta planta resulta de gran interés para su estudio como fotoprotectora.



**Figura 14.** *Dyssodia tagetiflora* Lag. (Rojas Chavez et al., 2011).

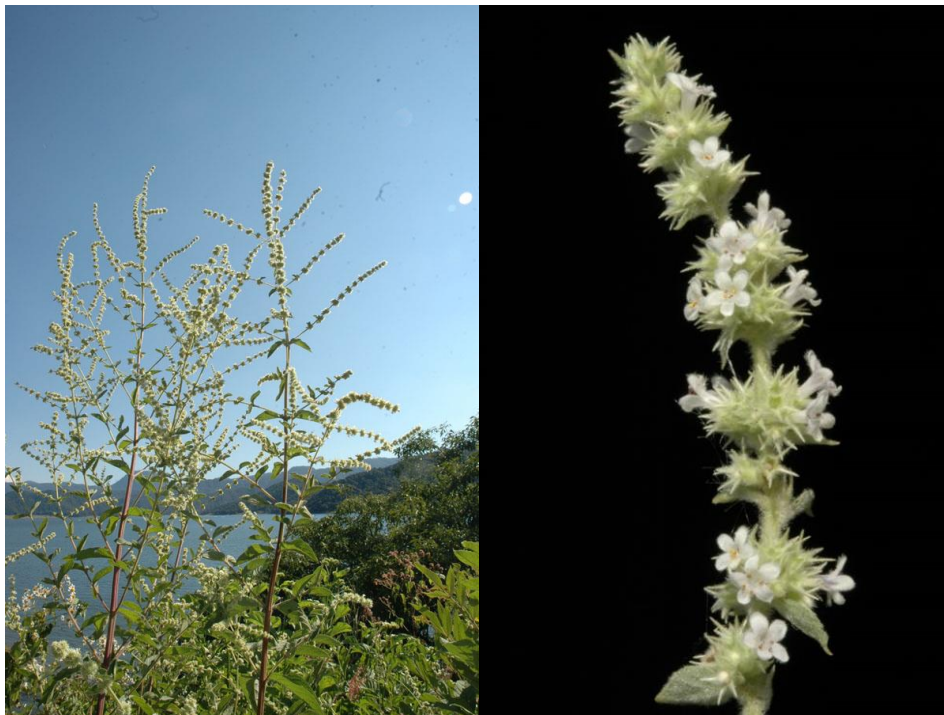
◦ *Hyptis mociniana*

*H. mociniana* es una planta perteneciente a la familia Labiatae. Se le conoce comúnmente como “verbena montés” y se distribuye por los estados de Chihuahua, Chiapas, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Veracruz y Zacatecas. Es un arbusto delgado cubierto de tricomas. Su inflorescencia presenta pequeñas flores ordenadas en varios grupos de gran densidad (Nolasco, 2018) (figura 18).

El género *Hyptis* posee más de 300 especies de plantas y es utilizado en la medicina tradicional oaxaqueña contra enfermedades estomacales, problemas menstruales, enfermedades respiratorias e inflamaciones, contusiones y como auxiliar en el parto (Domínguez-Vázquez y Castro-Ramírez, 2002; Jesus et al., 2013). Este género tiene diversas actividades biológicas como antiinflamatoria y antioxidante. *H. suaveolens*

posee actividad gastroprotectora y antiulcerogénica (Jesus et al., 2013); *H. verticillata* actividad antiinflamatoria, antibacteriana y anticancerígena (Picking et al., 2013); *H. pectinata* tiene actividad antinociceptiva y antiinflamatoria (Raymundo et al., 2011); *H. suaveolens* con actividad hepatoprotectora (Ghaffari et al., 2012); *H. emoryi* tiene un efecto anticanceroso (Sheth et al., 1972) etc.

Nolasco en 2018 realizó un estudio químico en el que se confirma que *H. mociniana* tiene compuestos como alcohol patchoulinico, cariofileno, D-germacreno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, entre otros. Su aceite esencial fue efectivo contra bacterias como *S. aureus*, *M. luteus* y *V. cholerae*, mientras que el extracto metanólico de esta planta presentó un pico máximo de absorción a 325 nm gracias a la presencia de compuestos fenólicos, además, presentó actividad fotoprotectora en un modelo bacteriano, por lo que se infiere que este extracto actuará como un buen fotoprotector a nivel celular y tisular.



**Figura 15.** *Hyptis mociniana* Benth (Hanan Alipi et al., 2009).

### 3.4.2 Modelos de estudio

La eficacia de los fotoprotectores se puede determinar por diferentes métodos, cada vez más robustos y de dominio mundial sobre modelos *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo* (Young et al., 2017).

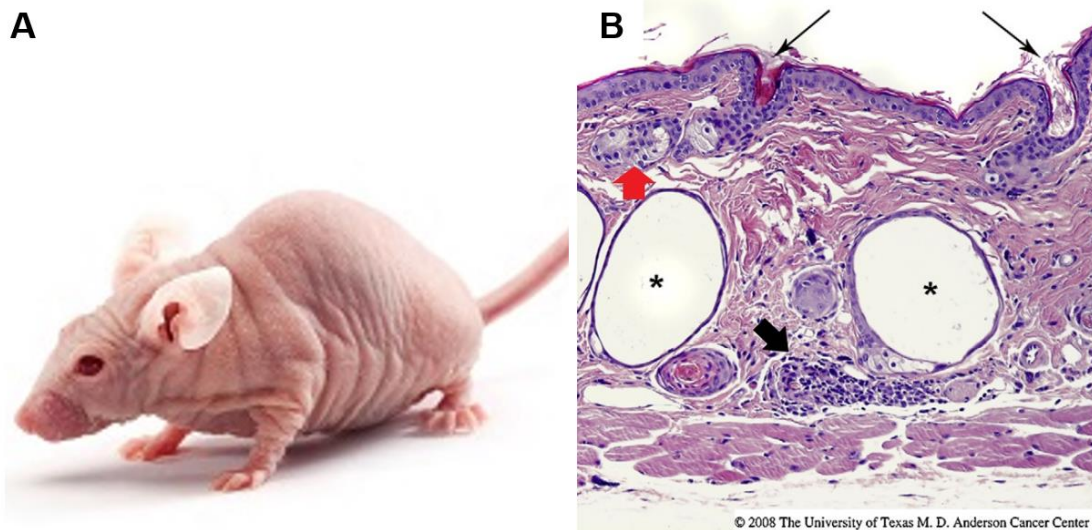
En estudios de fotoprotección de fármacos *in vitro*, los cultivos celulares son comúnmente utilizados. Una de las líneas celulares que más se utilizan es la de queratinocitos humanos inmortalizados HaCaT. Esta línea celular se originó de piel adulta como un cultivo celular epitelial humano inmortalizado transformado espontáneamente. Estos queratinocitos no tumorigénicos, mantienen su morfología normal y su capacidad de diferenciación; además de que, al exponerse a la RUV, se someten a apoptosis como los queratinocitos normales.

Los queratinocitos de la línea celular HaCaT se caracterizan por su sensibilidad a dosis letales de RUV gracias a que tienen mutaciones en el gen supresor de tumor p53, lo que disminuye su capacidad de unión al ADN. Por lo tanto, el modelo de apoptosis inducida por RUV es extensamente utilizado en estudios de fotoprotección (Pastore et al., 2011).

Los ratones son un modelo *in vivo* ampliamente utilizado en el área de fotoprotección, ya que presentan ventajas como su tamaño, costo y facilidad de manejo (Kim et al., 2003). Los ratones SKH-1 se utilizan ya que desarrollan eritema de forma muy similar a los humanos y en la histología, sus tumores cutáneos son más similares a los desarrollados en humanos (Kim et al., 2003). Estos ratones desarrollan de forma normal su primera capa de pelo, sin embargo, a las 3 semanas de edad lo pierden completamente. Posteriormente, vuelve a haber brotes de pelo, sin embargo, los folículos pilosos se degradan y disminuye su número. Este fenómeno ocurre gracias a que poseen una mutación en el gen Hr que se encuentra en el cromosoma 14 de estos animales (Benavides et al., 2009).

En la piel de estos ratones se presentan dos estructuras visibles a nivel histológico. La primera es el utrículo que es una estructura en forma de ámpula que está rodeada por epitelio hiperqueratósico y que se conecta con la superficie de la piel. La segunda es el quiste dérmico que se encuentra en la dermis papilar, está revestido de epitelio queratinizado y puede contener sebocitos en la pared. Otro rasgo característico es que se produce un aumento gradual en las glándulas sebáceas y se desarrollan granulomas dérmicos. La piel de estos animales es rugosa y este rasgo aumenta con la edad. Sus uñas son largas y retorcidas. La epidermis de estos ratones es del mismo grosor, sin embargo, la dermis de los machos es más gruesa al igual que la hipodermis de las hembras (Benavides et al., 2009).

Los ratones SKH-1 son ampliamente utilizados en pruebas de fotoprotección ya que, al tener piel desnuda, no es necesaria su depilación y, por lo tanto, se evita la inflamación cutánea generada por este proceso. Estos ratones desarrollan una respuesta eritematosa típica, sin embargo, son más sensibles a la inmunosupresión inducida por la RUV (Benavides et al., 2009) (figura 16).



**Figura 16.** A) Ratón SKH-1 de piel desnuda. B) Corte histológico de la piel de estos ratones a la derecha. Los asteriscos indican los quistes dérmicos; con flechas largas y negras se señala el utrículo; las glándulas sebáceas hiperplásicas son marcadas con una flecha roja y la flecha negra corta muestra la inflamación dérmica típica en estos ratones (Charles River Laboratories, 2018, Benavides et al., 2019).

---

## 4. ANTECEDENTES

---

Existen muchos antecedentes sobre el uso de los productos naturales en fotoprotección. Las familias Asteraceae y Labiatae poseen metabolitos secundarios con una gran variedad de propiedades útiles para el uso humano.

Plantas de la familia Asteraceae son utilizadas en la medicina tradicional contra padecimientos como diarrea (Tortoriello et al., 1995, Rojas et al., 1999), dolor dental, bronquitis, enfermedades urinarias (Cabral et al., 2013), dispepsia, resfriados, mordidas de animales, cólicos, entre otros (Shemluck, 1982), como antibióticos y/o antifúngicos (Gutiérrez-Lugo et al., 1996), como analgésicos y antiinflamatorios (Alonso-Castro et al., 2011; Juárez-Vázquez et al., 2013) entre otros. Se ha demostrado que la subtribu

*Tagetae* cuenta con integrantes como *Tagetes minuta* con actividad antiinflamatoria brindada por el alto contenido en compuestos fenólicos (Ibrahim et al., 2018), *Tagetes erecta* con alto contenido en compuestos fenólicos antioxidantes como ácido gálico, galicina, quercetagenina y quercetina (Gong et al., 2012) entre otros.

El género *Dyssodia* cuenta con pocos antecedentes sobre sus actividades biológicas, sin embargo, se sabe que *D. papposa* tienen actividad espasmolítica (Tortoriello et al., 1995), antifúngica (Gutierrez-Lugo et al., 1996), analgésica (Shemluck, 1982) y que *D. pinnata* tiene actividad espasmolítica (Rojas et al., 1999). Se sabe que *D. tagetiflora* cuenta con compuestos con alta actividad antioxidante y antiinflamatoria como quercetina, avicularina e hiperósido (Reyna-Campos, 2018; García-Bores et al., 20118).

La familia Labiatae es reconocida por poseer integrantes con actividad antiinflamatoria (al-Sereiti et al., 1999), antioxidante (Zheng y Wang, 2001), antidepresiva (Takeda et al., 2002), antineoplásica (Alonso-Castro et al., 2011) entre otras. El género *Hyptis* es utilizado en la medicina tradicional por sus propiedades antidiarreica, antiinflamatoria, por su actividad contra problemas menstruales, enfermedades respiratorias (Domínguez-Vázquez y Castro-Ramírez, 2002), desordenes gastrointestinales, condiciones dermatológicas y tumores gástricos y cutáneos (Alonso-Castro et al., 2011), entre otros.

Gracias a sus antecedentes etnobotánicos, diversas especies de este género han sido estudiadas. Tal es el caso de *H. verticillata* que demostró tener actividad antiinflamatoria y una gran variedad de metabolitos secundarios aislados (Picking et al., 2013); *H. emoryi* que presentó actividad antitumoral contra carcinoma de Walker *in vitro* (Sheth et al., 1972); *H. pectinata* con actividad antininoceptiva y antiinflamatoria gracias a la reducción en la producción de mediadores inflamatorios locales (Raymundo et al., 2011); *H. suaveolens* con actividad antiulcerogénica (Jesus et al., 2013); *H. pectinata* con actividad antininoceptiva y antiedematogénica relacionada a la inhibición de varios tipos de mediadores inflamatorios como histamina, serotonina y prostaglandinas (Fransotti et al., 2001); *H. martiusii* con actividad antiedematogénica inhibiendo la liberación de mediadores inflamatorios (Barbosa et al., 2017), entre otras. Un estudio realizado por Nolasco, en 2018, indica que *H. mociniana* posee una variedad de compuestos como monoterpenos, sesquiterpenos, y compuestos fenólicos y flavonoides que se encuentran en proceso de identificación.

---

## 5. JUSTIFICACIÓN

---

La piel es el órgano que más se expone a la RUV. Esta radiación es causante de daños deletéreos agudos y crónicos que pueden conducir al desarrollo de cáncer de piel. Por esta razón, se recurre a la fotoprotección como una estrategia para prevenir, controlar y/o reparar los daños ocasionados por la RUV.

El uso de productos naturales con potencial antioxidante, antiinflamatorio, inmunomodulador y anticarcinogénico puede inhibir o retrasar eventos celulares y moleculares para así evitar, controlar y/o reparar el daño cutáneo inducido por la RUV.

Las familias Asteraceae y Labiatae poseen especies que presentan compuestos con actividad antioxidante, antiinflamatoria, inmunomoduladora, citoprotectora y anticarcinogénica. Se infiere que *D. tagetiflora* e *H. mociniana*, al pertenecer a estas familias botánicas, tendrán las mismas actividades y además serán buenos fotoprotectores.

---

## 6. PREGUNTA CIENTÍFICA

---

¿Los extractos metanólicos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* tendrán efecto fotoprotector en queratinocitos de la línea celular HaCaT y en ratones SKH-1 sometidos de forma aguda a la radiación UV?

---

## 7. HIPÓTESIS

---

Si varias plantas pertenecientes a los géneros *Dyssodia* e *Hyptis* tienen compuestos con actividad antiinflamatoria y antioxidante, los extractos metanólicos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* tendrán además un efecto fotoprotector en queratinocitos de la línea celular HaCaT y en ratones SKH-1 expuestos a la RUV de forma aguda.



---

## 8. OBJETIVOS

---

Evaluar el efecto fotoprotector de los extractos metanólicos de *D. tagetiflora* y de *H. mociniana* a nivel celular y tisular.

Objetivos particulares:

- Determinar el efecto citotóxico de los extractos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* en queratinocitos de la línea celular HaCaT.
- Estimar el efecto fotoprotector de los extractos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* en queratinocitos de la línea celular HaCaT.
- Evaluar la penetración de los extractos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* en piel de ratones SKH-1.
- Evaluar de forma macroscópica la presencia de eritema en piel de ratones SKH-1 protegida con los extractos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana*.
- Diagnosticar de forma histológica el efecto fotoprotector de los extractos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* sobre piel de ratones SKH-1.
- Valorar el efecto antiinflamatorio de los extractos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* en piel de ratones SKH-1 por medio del conteo de mastocitos.

---

## 9. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

---

La estrategia metodológica de este trabajo se dividió en cinco fases:

9.1 Prueba de citotoxicidad y fotoprotección en cultivo celular.

9.2 Prueba de penetración de los extractos en piel de ratones SKH-1.

9.3 Experimento de exposición aguda a la RUV con ratones SKH-1.

9.4 Evaluación de la presencia de eritema en la piel de ratones SKH-1 después de la exposición aguda a la RUV.

9.5 Análisis histológico de piel de ratones SKH-1 expuestos de forma aguda a la RUV.

Los extractos metanólicos de *D. tagetiflora* y de *H. mociniana* fueron proporcionados por el laboratorio de Fitoquímica de la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Se obtuvieron mediante el método de maceración de la parte aérea de ambas plantas.

Los gráficos y los análisis estadísticos correspondientes se llevaron a cabo en el programa GraphPad Prism 7.

## **9.1 PRUEBAS DE CITOTOXICIDAD Y FOTOPROTECCIÓN *in vitro***

Las pruebas de citotoxicidad y fotoprotección se llevaron a cabo en la línea celular de queratinocitos humanos HaCaT. El cultivo celular se mantuvo en cajas petri de 100 x 15 mm con medio DMEM-F12 suplementado al 10% con suero fetal bovino (SFB) en una incubadora de CO<sub>2</sub> al 5% (Thermo) a una temperatura de 37°C.

Las células fueron cosechadas con 800 µL de Tripsina-EDTA al 0.25% (marca IN VITRO) dejándola actuar por 5 min a 37°C. Se adicionó 1 mL del medio con la finalidad de lavar y despegar las células completamente. La suspensión celular fue colocada en un tubo falcon de 15 mL y se centrifugó por 5 min a 1300 rpm, se decantó el sobrenadante y la pastilla se resuspendió en 1 mL de medio DMEM-F12 suplementado con SFB al 10%. Se tomaron 10 µL de la resuspensión para realizar el conteo celular en cámara de Neubauer y determinar el número de células por pozo (1x10<sup>5</sup>).

Las células se subcultivaron en placas de 96 pozos para permitir su adherencia durante 5 h. Posteriormente fue retirado el medio de cultivo y se agregaron 100 µL de medio DMEM-F12 con SFB 2% y se incubó durante 24 h. Posteriormente se cambió el medio a cada uno de los pozos y se agregaron las diferentes sustancias a evaluar (Espinosa-González, 2016).

Los extractos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* se disolvieron en 20 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) como vehículo y 4.98 mL de medio DMEM-F12 para realizar la solución inicial, a partir de la cual se llevaron a cabo las diluciones correspondientes para obtener las

concentraciones utilizadas (los grupos experimentales se desglosan en la tabla 2). Cada concentración se realizó por quintuplicado. Se colocaron 100 µL de cada concentración y se incubaron las células durante 30 min a 37°C y una concentración del 5% de CO<sub>2</sub> previo a la irradiación (en el caso de la prueba de fotoprotección).

**Tabla 2.** Grupos experimentales y concentraciones utilizadas en los experimentos de citotoxicidad y fotoprotección en queratinocitos HaCaT.

Prueba		Grupo experimental	Condiciones				
Fotoprotección	Citotoxicidad	C+	Medio DMEM-F12 con SFB 10%				
		C-	Medio DMEM-F12 con SFB 10%				
		DMSO	2%		50%		
		Dyss	1	10	100	1000	10000
		Hyp	1	10	100	1000	10000

Todos los grupos fueron mantenidos en medio DMEM-F12 con SFB al 10% y se les adicionaron las sustancias descritas en la tabla 2. Las concentraciones de *D. tagetiflora* (Dyss) e *H. mociniana* (Hyp) están expresadas en ppm.

Después de 24 h de incubación, se realizó el método de reducción de la sal 3-(4,5,-dimetiazol-2-il)-2,5- bromo difeniltetrazolio (MTT). El MTT es una sal de tetrazolio de color amarillo y soluble en agua, el cual se reduce a un formazán de color azul púrpúreo por la acción de la enzima mitocondrial succinato deshidrogenasa de las células vivas (Espinosa-González, 2016).

El análisis se llevó a cabo tomando en cuenta la correlación existente entre el MTT metabolizado y el número de células viables, a partir de la intensidad de color que se presenta en cada pozo, la cual se mide por medio de un espectrofotómetro de placas EPOCH (Biotek) a 540 nm y con el software Gene5. Las absorbancias fueron normalizadas y el porcentaje de viabilidad celular se determinó empleando el software GraphPad Prism 7 (Espinosa-González, 2016).

Para el experimento de fotoprotección, las células HaCaT fueron cultivadas de la misma manera que en el experimento de citotoxicidad y fueron tratadas con las mismas concentraciones de los extractos vegetales (tabla 2). A continuación, se irradiaron durante 60 min a una distancia de 20 cm, con una lámpara de RUV-B (312 nm, Spectroline EB-280C).

La dosis de irradiación fue de 90 mJ/cm<sup>2</sup>, la que fue determinada con un radiómetro Spectroline DM-300HA. 24 h después se llevó a cabo la prueba colorimétrica MTT para determinar el porcentaje de viabilidad e inhibición.

## **9.2 PRUEBA DE PENETRACIÓN DE LOS EXTRACTOS EN PIEL DE RATONES SKH-1**

Con la finalidad de conocer la cantidad de extracto que penetra en la piel de los ratones, se colocaron 5 ratones SKH-1 en una campana de flujo laminar y se les marcó un área de 4cm<sup>2</sup> en el dorso. En la zona marcada, se aplicaron 50µL de cada uno de los extractos disueltos en etanol al 70% a una concentración final de 4mg/cm<sup>2</sup>.

A los 15 minutos de la aplicación de los extractos, se retiró el excedente con un hisopo de algodón impregnado con etanol al 70%. Se procedió a cubrir el área de aplicación con cinta adhesiva (marca 3M de 19 mm) para retirar los corneocitos. Se repitió este procedimiento por cuatro ocasiones en cada uno de los ratones. La primera de las cuatro cintas se desechó, mientras que las tres restantes fueron depositadas en un vaso de precipitados con 5 mL de etanol y se mantuvieron en agitación durante 30 min.

La cantidad de extracto que penetró en la piel de los ratones fue determinada por medio de un espectrofotómetro (Perkin-Elmer, Lambda 2S UV/VIS). La absorbancia fue ajustada a 365 nm para *D. tagetiflora* ya que García-Bores y colaboradores en 2018 reportaron la presencia de hiperósido y avicularina, los cuales coinciden en un máximo de absorción cercano a 365 nm; y a 325 nm para *H. mociniana*, Nolasco en 2018 reportó que el extracto metanólico de esta planta, tiene compuestos fenólicos con picos de absorción a 325 nm. Los resultados de la penetración se obtuvieron por medio de una regresión lineal y finalmente se transformaron a porcentajes (Lademann et al., 2009).

## **9.3 EXPERIMENTO AGUDO DE FOTOPROTECCIÓN EN RATONES SKH-1**

Los ratones utilizados en este experimento se obtuvieron de Charles River Laboratories International, Inc. (NY). Se mantuvieron en esterilidad en el bioterio de la FES Iztacala, bajo las condiciones siguientes: fueron alimentados con agua y alimento Harlan para

roedores *ad libitum*, con un ciclo de 12 h luz y 12 h oscuridad a una temperatura de 24°C; con la previa aclimatación de los ratones.

Se utilizaron 30 ratones para este experimento, divididos en 6 grupos de la siguiente manera: C- (vehículo: etanol al 70%), C+ (vehículo y expuesto a la RUV), Dyss (extracto metanólico de *D. tagetiflora*), DUV (extracto metanólico de *D. tagetiflora* y expuesto a la RUV), Hyp (extracto metanólico de *H. mociniana*) y HUV (extracto metanólico de *H. mociniana* y expuesto a la RUV).

Se aplicaron 200 µL de cada solución a una concentración final de 2mg/cm<sup>2</sup>, en la zona dorsal de cada ratón. Cada tratamiento se aplicó 15 min antes de iniciar el experimento. Los grupos C+, DUV y HUV se colocaron en cajas de acrílico para ser sometidos a una sola exposición a la RUV durante 10 min, proporcionando una irradiancia de 6 mJ/cm<sup>2</sup> (Espinosa-González, 2016).

## **9.4 EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE ERITEMA EN LA PIEL DE RATONES SKH-1 DESPUÉS DE LA EXPOSICIÓN AGUDA A LA RUV**

A las 24 h posteriores de la exposición a la RUV de los ratones SKH-1, se evaluó la formación de eritema por el enrojecimiento presentado en el área de irradiación. Esto fue medido con la ayuda de un colorímetro (Lutron, Mod RGB-1002). Estos valores fueron expresados como enrojecimiento producido en la zona dorsal en unidades “RGB” (red, green and blue) (Trujillo et al., 1996). Los datos fueron analizados y graficados.

## **9.5 ANÁLISIS HISTOLÓGICO**

Los ratones fueron sacrificados por asfixia en una cámara de CO<sub>2</sub>, 24 h después de concluido el experimento. Se tomó la piel de la zona dorsal, donde fueron aplicados los tratamientos. Las muestras se fijaron por 24 h en paraformaldehído al 2% disuelto en buffer de fosfatos con un pH neutro 7.2. Posteriormente se deshidrataron en un tren de alcohol etílico con un gradiente creciente de concentraciones (70, 80, 96 y 100%) y fueron incluidos en parafina histológica para proceder a realizar los cortes de 5µm de

grosor y las tinciones de hematoxilina-eosina y de Dominicci para cada uno de los análisis correspondientes (Byrne et al., 2015; Espinosa-González, 2016). Finalmente, los cortes histológicos se analizaron a través de un microscopio óptico marca Leica modelo DM500.

### 9.5.1 Evaluación histológica general.

Para la evaluación histológica, se realizó la tinción de hematoxilina-eosina. Se evaluaron los daños enlistados en la tabla 3, en epidermis y dermis con la determinación de presencia o ausencia de lesiones, extensión: focal (si están presentes de 0 a 20% del área total del corte histológico), multifocal (de 20% a 50%) o difusa (50% a 100%) (Elder et al., 1997; Robbins et al., 2008) asignándoles el número 1, 2 o 3, respectivamente; y grado: leve, moderado o severo, con los números representativos 1, 2 o 3. Las gráficas de estos daños se realizaron agrupando los daños en epidérmicos y dérmicos con la finalidad de tener un mejor panorama de la actividad fotoprotectora de los extractos utilizados.

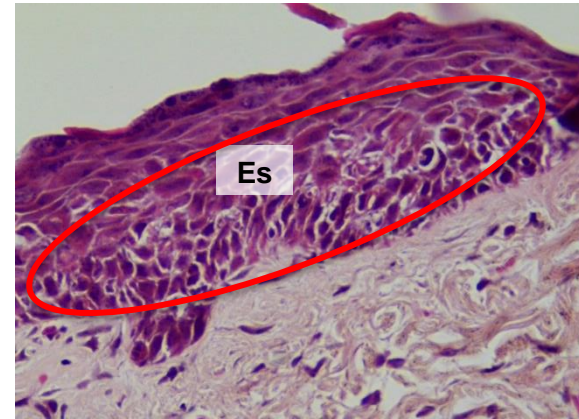
**Tabla 3.** Daños agudos causados por exposición a la RUV (Robbins et al., 2015; Stevens et al., 2003).

Tejido	Daño	Descripción	Imagen
Estrato córneo	Paraqueratosis (Pq)	Queratina del estrato córneo anormal, presencia de núcleos fusiformes y pérdida o adelgazamiento del estrato granuloso (Stevens et al., 2003).	
	Hiperqueratosis (Hq)	Aumento en el grosor del estrato córneo (Stevens et al., 2003).	

Epidermis

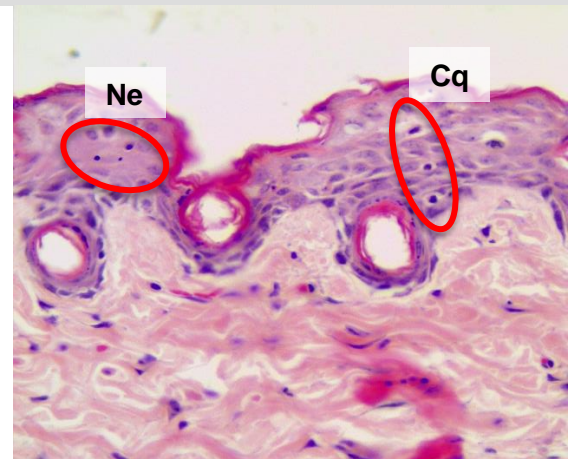
Espongiosis (Es)

Edema intraepidérmico que separa las células. Se define como la separación de desmosomas por acumulación de líquidos (Stevens et al., 2003).



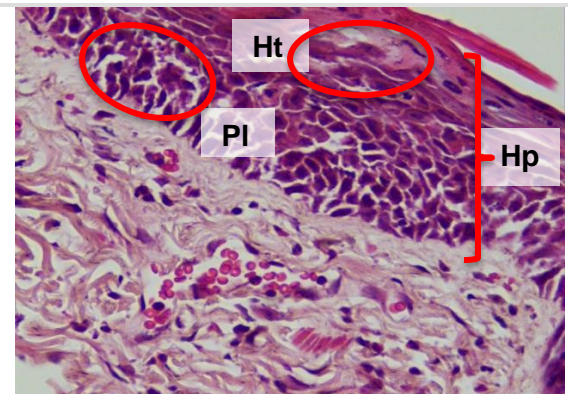
Apoptosis (Ap) o células de quemadura (Cq)

Células redondas con núcleos picnóticos, contraídos y citoplasma eosinófilo (Robbins et al., 2015).



Necrosis (Ne)

Muerte celular que involucra la pérdida de la membrana evaluación (Espinosa-González, 2016).



Pleomorfismo

Las células epidérmicas y/o sus núcleos varían en forma (Stevens et al., 2003).

Hipertrofia (Ht)

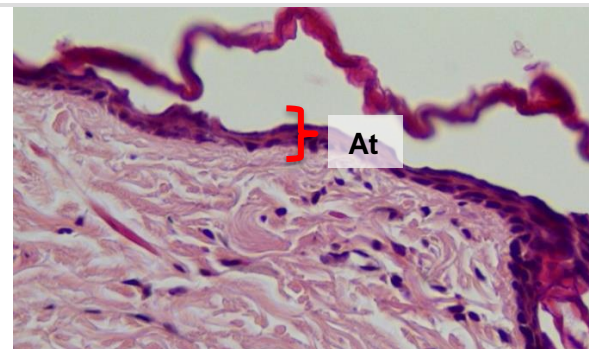
Aumento del tamaño de las células y del tejido de la epidermis (Espinosa-González, 2016).

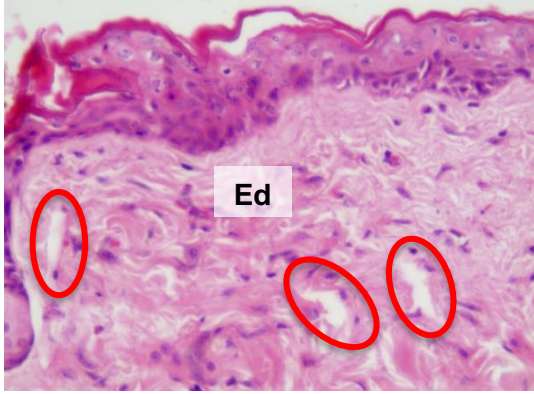
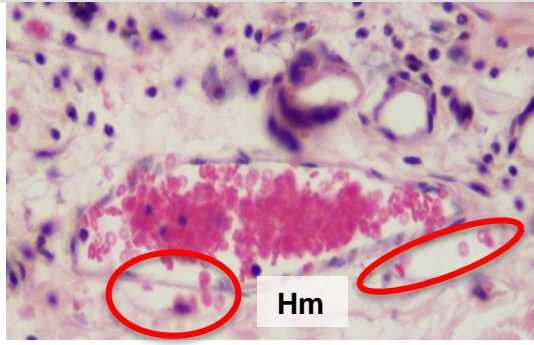
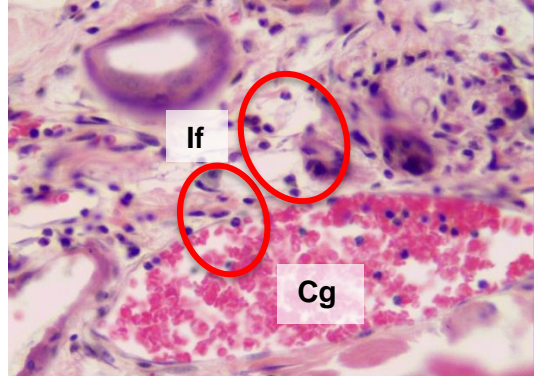
Hiperplasia (Hp)

Aumento del número de capas de epidermis, debido al aumento de la tasa de proliferación celular (Walker et al., 2005).

Atrofia (At)

Adelgazamiento de la capa epidérmica por la disminución del espesor o tamaño celular (Espinosa-González, 2016).



Edema (Ed)	Acumulación de líquido intersticial (Robbins et al., 2015).	
Hemorragia (Hm)	Extravasación de eritrocitos hacia la dermis (Espinosa-González, 2016).	
Congestión de vasos sanguíneos (Cg)	Acumulación de eritrocitos en vasos sanguíneos por aumento en el flujo sanguíneo (Espinosa-González, 2016).	
Infiltrados inflamatorios (If)	Presencia de polimorfos nucleares (neutrófilos, mastocitos y macrófagos principalmente) (Espinosa-González, 2016).	

### 9.5.2 Efecto antiinflamatorio de los extractos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* en piel de ratones SKH-1 por medio del conteo de mastocitos

Finalmente, se realizó la tinción de Dominicci o azul de toluidina específica para mastocitos con la finalidad de obtener un mejor panorama sobre la respuesta inflamatoria obtenida de este experimento. El conteo se realizó en cada uno de los campos de observación de los cortes histológicos. Estos campos variaron de acuerdo con el tamaño de los cortes histológicos y se realizaron por triplicado en cada una de las muestras del tratamiento a modo de doble ciego (sin observar el etiquetado de la muestra). Los resultados fueron reportados como número promedio de mastocitos por campo de observación.



Todos los análisis estadísticos y las gráficas correspondientes del análisis histológico se realizaron en el programa GraphPad Prism 7. Se promediaron los valores obtenidos del conteo y se realizó una prueba estadística ANOVA de un factor y una prueba Dunnett de comparación múltiple de medias para tener un resultado preliminar sobre la respuesta inflamatoria inducida por la exposición aguda a la RUV (Welsch & Sobotta, 2009). Los resultados y la discusión de cada uno de los extractos se mostrarán por separado.

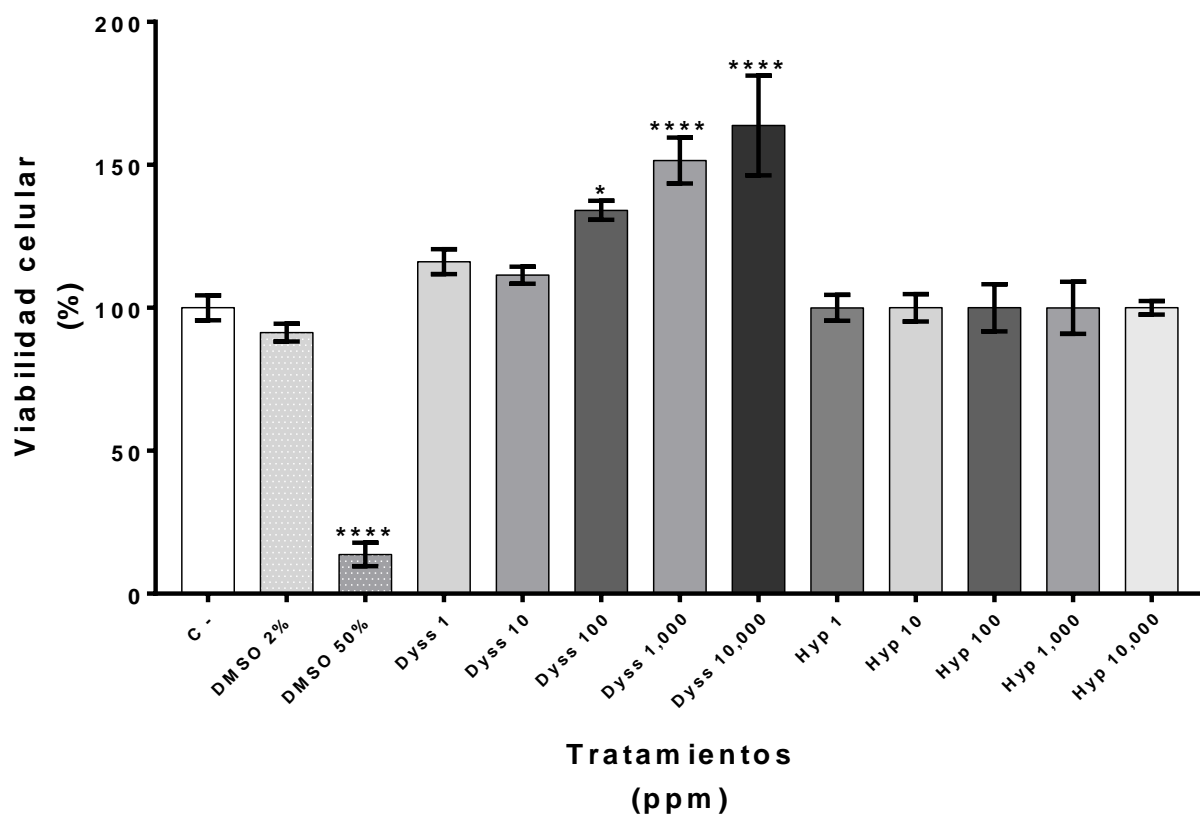
---

## 10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

### **10.1 CITOTOXICIDAD DE LOS EXTRACTOS METANÓLICOS DE *D. tagetiflora* E *H. mociniana* EN QUERATINOCITOS HUMANOS DE LA LÍNEA CELULAR HaCaT**

Una prueba Dunnett de comparación múltiple de medias aplicada a los resultados de la prueba de citotoxicidad de ambos extractos sobre la línea celular HaCaT, indica que ninguna de las concentraciones utilizadas de los extractos fue citotóxica en queratinocitos humanos de la línea celular HaCaT. El C- al que no le fue aplicado ningún estímulo, fue tomado como referencia para obtener el porcentaje de viabilidad de los grupos experimentales. Los grupos tratados con DMSO tienen diferencias evidentes en el porcentaje de viabilidad de forma dependiente de la dosis. El tratamiento con DMSO al 50% redujo el porcentaje de viabilidad celular casi en su totalidad, mientras que el grupo tratado con 2% de DMSO la viabilidad celular se mantuvo de forma similar al C-. Está comprobado que el DMSO, a bajas concentraciones, es un excelente vehículo para probar sustancias experimentales, sin embargo, a concentraciones más allá del 5%, es notable la citotoxicidad de este solvente ya que interviene con el metabolismo celular y con la integridad de la membrana celular (Pennickx et al., 1983; Watanabe et al., 2000, Da Violante, 2002), como se puede observar en este experimento.



**Gráfica 1.** Prueba de citotoxicidad de los extractos de *D. tagetiflora* (Dyss) e *H. mociniana* (Hyp) a diferentes concentraciones (ppm) en queratinocitos de la línea celular HaCaT. Las barras marcadas con asteriscos indican el grado de diferencia estadística (n=5; \*p<0.05) con respecto al grupo control negativo (C-).

### 10.1.1 Citotoxicidad del extracto metanólico de *D. tagetiflora* en queratinocitos HaCaT.

En la gráfica 1 se observa que las concentraciones de 100, 1000 y 10000 ppm del extracto metanólico de *D. tagetiflora* aumentan la viabilidad celular con diferencias estadísticamente significativas en comparación con el control negativo. Este efecto puede ser causado por la presencia compuestos pertenecientes al grupo de los polifenoles como hiperósido, avicularina, acetato de avicularina y quercetina en el extracto metanólico de *D. tagetiflora*. Estos compuestos son reconocidos por tener actividades biológicas como antiinflamatoria (Ku et al., 2014), anticancerígena (Wang et al., 2016), antioxidante (Williams et al., 2004; Choi et al., 2011; Vo et al., 2012; Ku et al., 2014; Wang et al., 2016, García-Bores et al., 2018). Está reportado que extractos vegetales con alto contenido de flavonoides como hiperósido y quercetina favorecen la viabilidad de células cutáneas. Tal es el caso del extracto etanólico de *Hypericum*

*formosanum* que favorece el aumento de la viabilidad celular en queratinocitos epidérmicos humanos HaCaT en una forma dependiente de la dosis (Huang y Liaw, 2017) al igual que el extracto metanólico de *D. tagetiflora*; estos extractos coinciden en polaridad y algunos compuestos como hiperósido y quercetina.

El hiperósido, uno de los compuestos identificados en *D. tagetiflora*, ha sido probado sobre melanocitos por su actividad antioxidante. Los melanocitos son las células cutáneas más susceptibles al daño por estrés oxidativo, en comparación con los queratinocitos y los fibroblastos. El tratamiento de estas células con hiperósido aumentó la viabilidad celular en melanocitos de una forma dependiente de la dosis, por su efecto sobre los mensajeros y transcritos de factores involucrados en la apoptosis, y sobre los mensajeros y transcritos de factores involucrados en la apoptosis como Bcl-2, Bax, caspasa 3, PI3K, AKT y MAPK, promoviendo un estado antiapoptótico gracias a su actividad antioxidante (Yang et al., 2016). Lo anterior coincide con los resultados obtenidos en esta prueba de citotoxicidad, lo que nos sugiere que el extracto de *D. tagetiflora* ejerce un efecto antiapoptótico sobre el cultivo celular HaCaT con un mecanismo similar al reportado por Yang.

Los compuestos que posee el extracto de *D. tagetiflora* podrían ser la razón por la que, a mayor concentración, los queratinocitos HaCaT tienen una mayor viabilidad. Estos resultados coinciden con el estudio de Reyna en 2018, en el que el tratamiento de raíces Esto a causa de la sumatoria de sus efectos ejercidos sobre los procesos metabólicos normales y la formación de ERO, prolongando así el tiempo de vida de estas células (Reyna-Campos, 2018).

### 10.1.2 Citotoxicidad del extracto metanólico de *H. mociniana* en queratinocitos HaCaT

El extracto metanólico de *H. mociniana* no presentó actividad citotóxica. La viabilidad se mantuvo en 100% a todas las concentraciones utilizadas sin diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (gráfica 1). La identificación de los compuestos del extracto metanólico de *H. mociniana* se encuentra en proceso, sin embargo, Nolasco en 2018 reporta que está constituido por ácidos hidroxicinámicos y

flavonoides con actividad antioxidante que favorecen la viabilidad celular de forma constante sin ninguna señal de toxicidad relacionada a la concentración.

*H. mociniana* presenta flavonoides metoxilados en los extractos de mediana polaridad. Estos compuestos son agentes reconocidos por su potente citotoxicidad contra células cancerosas, sin embargo, al interactuar con células normales, estos compuestos producen una nula o escasa citotoxicidad (Walle et al., 2007). La O-metilación de los grupos hidroxilo libres incrementa la estabilidad metabólica de la molécula, haciéndolos resistentes a la degradación en el proceso de absorción intestinal (Lee et al. 2016) y favoreciendo su transporte a través de la membrana celular ya que esta modificación, influye directamente sobre la lipofilicidad de la molécula (Wang et al., 2018). Esto nos sugiere que el extracto metanólico de *H. mociniana* contiene flavonoides metoxilados al igual que el extracto de polaridad intermedia por su nula citotoxicidad contra queratinocitos humanos HaCaT y su efectividad en el mantenimiento de la viabilidad celular al 100%.

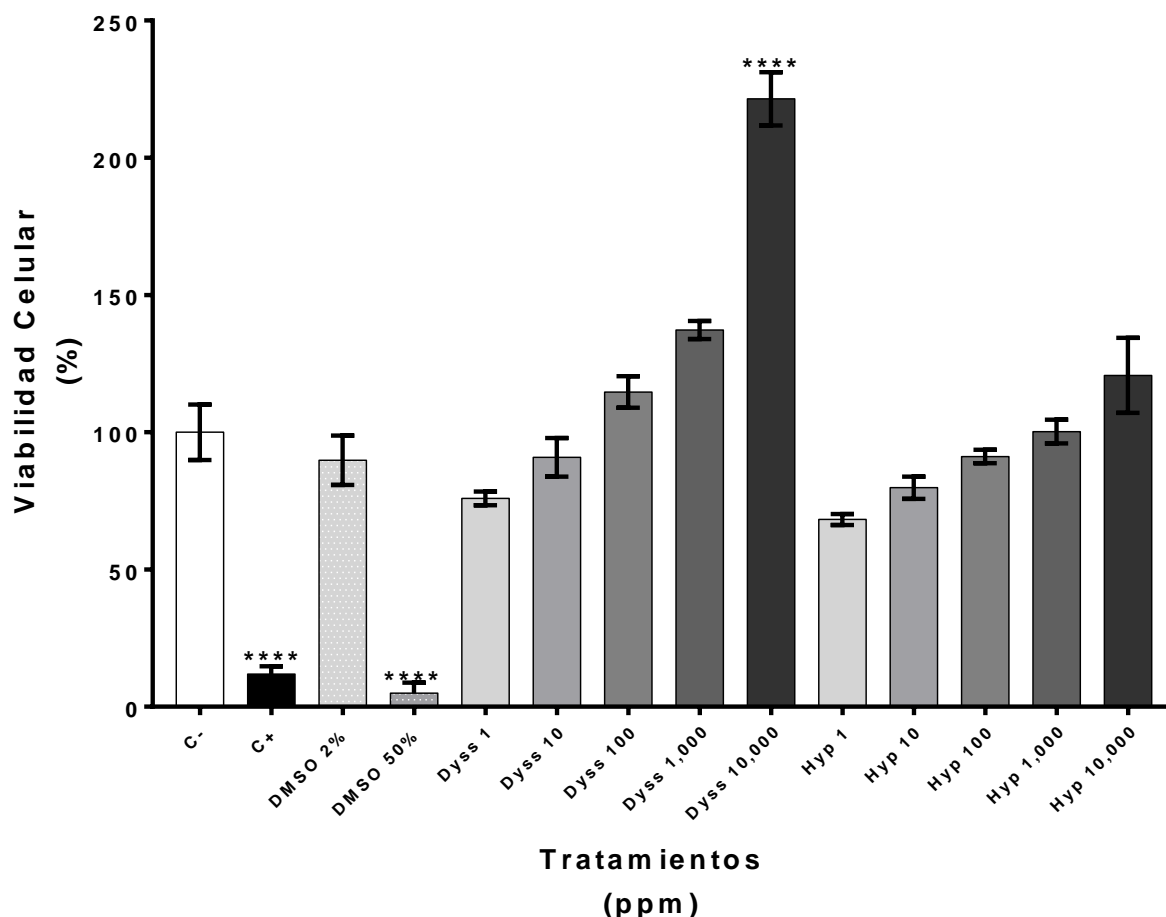
### 10.1.3 Conclusiones preliminares para el experimento de citotoxicidad de los extractos metanólicos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* sobre queratinocitos HaCaT

Los extractos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* no tuvieron efecto citotóxico sobre queratinocitos humanos HaCaT. Por el contrario, el extracto de *D. tagetiflora* favoreció el aumento de la viabilidad de estas células de forma dependiente de la dosis.

## 10.2 FOTOPROTECCIÓN DE LOS EXTRACTOS METANÓLICOS DE *D. tagetiflora* Y *H. mociniana* EN QUERATINOCITOS HaCaT

La gráfica 2 muestra los resultados de la prueba de fotoprotección de los extractos metanólicos de *D. tagetiflora* y *H. mociniana*. El control positivo (C+) presentó una disminución en la viabilidad celular estadísticamente significativa como consecuencia de la radiación aplicada. La reducción en la viabilidad celular de este grupo coincide con la ejercida por la concentración más tóxica de los grupos testigo con DMSO. Los resultados

del análisis de fotoprotección estadístico ANOVA de un factor y una prueba Dunnett indican que existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales con relación al control negativo (C-). Este efecto es consecuencia de la RUV que, al incidir en la piel, genera daños en las biomoléculas cutáneas como proteínas y lípidos al inducir estrés oxidativo y daño tisular (Sarkany, 2011). El ADN de las células epidérmicas es un cromóforo específico para la RUV-B, y su energía es uno de los genotóxicos más potentes que puede afectar la integridad y estabilidad del material genético celular (Roy, 2017). Por lo tanto, las células expuestas a la RUV adquieren mutaciones que, si se acumulan, pueden resultar en la reducción de la respuesta apoptótica, lo que implica la desregulación y/o falta de mecanismos o factores pro-apoptóticos (como el gen supresor de tumor p53) o anti-apoptóticos (como AKT). Por lo que, la proliferación celular se favorece en el tejido expuesto y se da origen a tumores y/o lesiones precancerosas como queratosis actínica (Claerhout et al., 2006). En respuesta a estas agresiones, la célula activa mecanismos de supervivencia que conllevan al arresto del ciclo celular y/o a la muerte celular programada para reparar los daños y prevenir la inestabilidad genómica (Afaq, 2011). Es posible observar las respuestas celulares descritas a nivel celular en el C+, por la disminución estadísticamente significativa en la viabilidad celular.



**Gráfica 2.** Experimento de fotoprotección de los extractos de *D. tagetiflora* (Dyss) y *H. mociniana* (Hyp) sobre queratinocitos de la línea celular HaCaT. Las barras marcadas con asterisco indican diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control negativo (C-) (n=5; \*p<0.05).

### 10.2.1 Actividad fotoprotectora de *D. tagetiflora* en queratinocitos HaCaT

La gráfica 2 muestra que las concentraciones de 1000 y 10000 ppm del extracto metanólico de *D. tagetiflora*, favorecieron la viabilidad celular de queratinocitos HaCaT, más allá del 150 y 200%, respectivamente con diferencias estadísticamente significativas en comparación con el C-. Estos resultados nos indican que el extracto de *D. tagetiflora* protege a las células HaCaT de los efectos nocivos de la RUV en una relación dependiente de la dosis administrada (Petruk et al., 2017). Este fenómeno ha sido observado en otros tratamientos con extractos vegetales ricos en compuestos antioxidantes, principalmente polifenoles (Kim et al., 2015). Está reportado que en el extracto de *D. tagetiflora* se encuentra presente el flavonoide quercetina (Reyra-Campos, 2018), reconocido por su actividad antiinflamatoria y antioxidante (Sharma et al., 2018),

sin embargo, la exposición de queratinocitos HaCaT a la quercetina, induce una ligera respuesta citotóxica como se observa en los tratamientos con las concentraciones más bajas del extracto metanólico de *D. tagetiflora* (Lee et al., 2005).

El hiperósido, otro flavonoide presente en *D. tagetiflora*, además de aumentar la viabilidad celular en queratinocitos humanos HaCaT en una forma dependiente de la dosis (Reyna-Campos, 2018), disminuye la expresión de la MMP-1 (también llamada colagenasa-1) inducida por la RUV-B, reforzando su actividad citoprotectora y fotoprotectora a nivel epidérmico y dérmico (Huang y Liaw, 2017). Finalmente, la avicularina es un compuesto reconocido por ser antioxidante (Williams et al., 2004; Vo et al., 2012). Estas actividades se pueden observar claramente en el grupo tratado con la concentración más alta del extracto de *D. tagetiflora*, con aumento en la viabilidad celular con diferencias estadísticamente significativas en comparación con el C-.

La actividad fotoprotectora de *D. tagetiflora* sobre queratinocitos HaCaT podría deberse al synergismo de los compuestos presentes en el extracto como quercetina, hiperósido, ya que protegen a las células de los efectos directos e indirectos de la RUV; de esta manera, no se requiere el sometimiento de la célula al proceso de arresto celular y/o reparación de los daños y, por lo tanto, el cultivo celular cuenta con las condiciones apropiadas para aumentar la viabilidad en una forma dependiente de la dosis.

### 10.2.2 Actividad fotoprotectora de *H. mociniana* en queratinocitos HaCaT

En la gráfica 2 se muestra que la viabilidad de los queratinocitos HaCaT protegidos con la concentración de 10000 ppm del extracto de *H. mociniana* aumentó más allá del 100% establecido a partir del C-. La concentración más baja utilizada de este extracto, a pesar de ser la que menor efecto fotoprotector tuvo sobre los queratinocitos, favoreció que la viabilidad celular se mantuviera sobre el 50%. Estos resultados indican que el extracto metanólico de *H. mociniana* tuvo un efecto fotoprotector sobre queratinocitos HaCaT dependiente de la dosis. Este efecto podría deberse a la presencia de flavonoides en *H. mociniana* con la capacidad de absorber la RUV-A y RUV-B (Nolasco, 2018), lo que indica que este extracto tiene potencial como fotoprotector.

En la familia Labiatae hay dos marcadores químicos llamados nepetoidinas A y B derivados del ácido caféico y con alta actividad antioxidante (dos Santos et al., 2018). El género *Hyptis* particularmente, cuenta con integrantes como *H. campestris*, *H. comaroides*, *H. radicans*, entre otras, que poseen alto contenido en compuestos fenólicos, derivados del ácido clorogénico y ácido rosmarínico (dos Santos et al., 2018) lo que sugiere que los compuestos presentes en el extracto metanólico de *H. mociniana* tienen alta actividad antioxidante que refuerza su actividad citoprotectora ante la RUV.

Los resultados obtenidos en esta prueba de fotoprotección con queratinocitos humanos HaCaT coinciden con lo reportado por Nolasco en 2018, en el que el extracto metanólico de *H. mociniana* brindó tres veces mayor protección contra la RUV-B al modelo bacteriano utilizado, en comparación con el control positivo, el cual no recibió ninguna protección.

### 10.2.3 Conclusión preliminar para el experimento de fotoprotección de los extractos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* en queratinocitos HaCaT

Los extractos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* presentaron un efecto fotoprotector sobre queratinocitos humanos inmortalizados HaCaT incrementando su efectividad en una relación dependiente de la dosis.

## 10.3 PRUEBA DE PENETRACIÓN DE LOS EXTRACTOS EN PIEL DE RATONES SKH-1

Los valores de la prueba de penetración de los extractos son mostrados en la tabla 4.

**Tabla 4.** Cantidad ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) y porcentaje de extracto de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* que penetró en la piel de los ratones SKH-1.

Extracto	Penetración en piel ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	%
<i>D. tagetiflora</i>	18	0.44
<i>H. mociniana</i>	23	0.56



### 10.3.1 Penetración del extracto de *D. tagetiflora* en la piel de ratones SKH-1

En la tabla 4 se puede observar que el 0.44% del extracto aplicado de *D. tagetiflora* fue absorbido por la piel de los ratones, esto equivale a 18  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Los glucósidos de quercetina son los principales compuestos del extracto metanólico de *D. tagetiflora*. Existen reportes sobre la actividad antioxidante, citoprotectora (García-Bores et al., 2018), y antiinflamatoria de la quercetina (Sharma et al., 2018), sin embargo, la quercetina tiene una baja capacidad de penetración en la piel a causa del ordenamiento de sus grupos hidroxilo dentro de la estructura de la molécula (Hatahet et al., 2016). La avicularina y el hiperósido son glucósidos, esta característica aumenta su polaridad y, por lo tanto, su penetración en la piel es pobre. Se podría pensar que la cantidad de compuestos activos del extracto de *D. tagetiflora* que penetran en la piel es baja; sin embargo, el número de moléculas capaces de penetrar es significativo según el número de Avogadro y puede tener efectos en la piel (Avila Acevedo et al., 2014).

### 10.3.2 Penetración del extracto de *H. mociniana* en la piel de ratones SKH-1

El extracto de *H. mociniana* presentó valores de penetración del 0.56% equivalente a 23  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (tabla 4). Los constituyentes del extracto metanólico de *H. mociniana* se encuentran en proceso de identificación, sin embargo, se sabe que son compuestos fenólicos y que estos se caracterizan por tener una penetración tópica limitada y para ellos se requiere un vehículo como cremas, formulaciones tópicas liposolubles que favorezcan la absorción de estos metabolitos por la piel o su dilución en solventes orgánicos como el etanol utilizado en este estudio (Nichols y Katiyar, 2010). Además, ciertas modificaciones en los grupos hidroxilo de los flavonoides a causa de metiltransferasas, aumentan su estabilidad molecular, favorecen su transporte transmembranal y facilitan su penetración (Koirala et al., 2016).

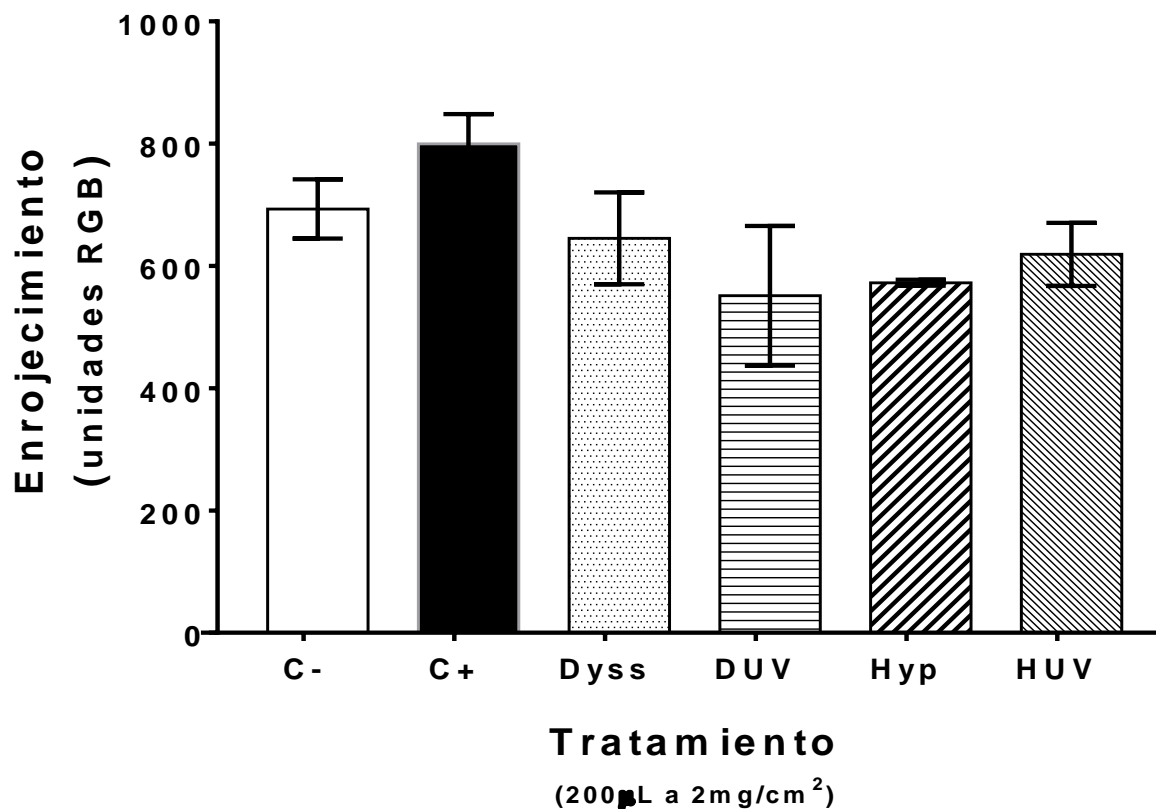
### 10.2.3 Conclusión preliminar de la prueba de penetración de los extractos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* en piel de ratones SKH-1

A pesar de que los extractos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* no tuvieron una penetración significativa en piel de ratones SKH-1, la cantidad de extracto que se absorbió puede ser suficiente para generar un efecto en la piel ante la exposición a la RUV.

## **10.4 EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE ERITEMA EN LA PIEL DE RATONES SKH-1 DESPUÉS DE LA EXPOSICIÓN AGUDA A LA RUV**

En la piel de los ratones SKH-1 expuestos de forma aguda a la RUV, se presentó una tendencia al incremento en el enrojecimiento a las 24 h posteriores de la irradiación como se observa en la gráfica 3. En esta respuesta de enrojecimiento inducida por la RUV, el factor determinante para el enrojecimiento de la piel es la congestión de los vasos sanguíneos cutáneos. A medida que aumenta la congestión vascular, la piel se enrojece (Trujillo et al., 1996; Rojas et al., 2011).

La exposición de la piel a la RUV induce la activación de la microvasculatura cutánea y altera la matriz extracelular que juega un papel muy importante en la homeostasis de este órgano, así como en el desarrollo de procesos inflamatorios agudos y en neoplasias. Algunos metabolitos secundarios como los flavonoides desempeñan un papel esencial en la protección de la piel ante la RUV. Tal es el caso de los flavonoides presentes en la uva roja (*Vitis vinifera*) como quercetina, catequina, epicatequina y malvidina que pueden proteger las células endoteliales de la vasculatura cutánea (Di Franceso et al., 2018).



**Gráfica 3.** Valores colorimétricos que indican la presencia de eritema en piel de ratones SKH-1 irradiados y tratados con los extractos de *D. tagetiflora* sin (Dyss) y con sometimiento a la RUV (DUV) e *H. mociniana* sin exposición (Hyp) y con exposición a la RUV (HUV). El control negativo (C-) fue tratado tópicamente con etanol y el control positivo (C+) fue sometido a la RUV sin protección.

#### 10.4.1 Evaluación de la presencia de eritema en la piel de ratones SKH-1 protegidos con el extracto de *D. tagetiflora*

Los grupos tratados con *D. tagetiflora* presentaron una disminución en el enrojecimiento ocasionado por el desarrollo del eritema del 20% en comparación con el C+. La reducción del enrojecimiento cutáneo y del eritema en los grupos tratados con *D. tagetiflora* puede ser el resultado de la presencia de compuestos con actividad de pantalla solar como la quercetina y algunos de sus derivados glicosilados como hiperósido y avicularina (García-Bores et al., 2018) que, además de absorber la RUV, tienen la capacidad de modular procesos que reduzcan la congestión de la microvasculatura cutánea.

#### 10.4.2 Evaluación de la presencia de eritema en la piel de ratones SKH-1 protegidos con el extracto de *H. mociniana*

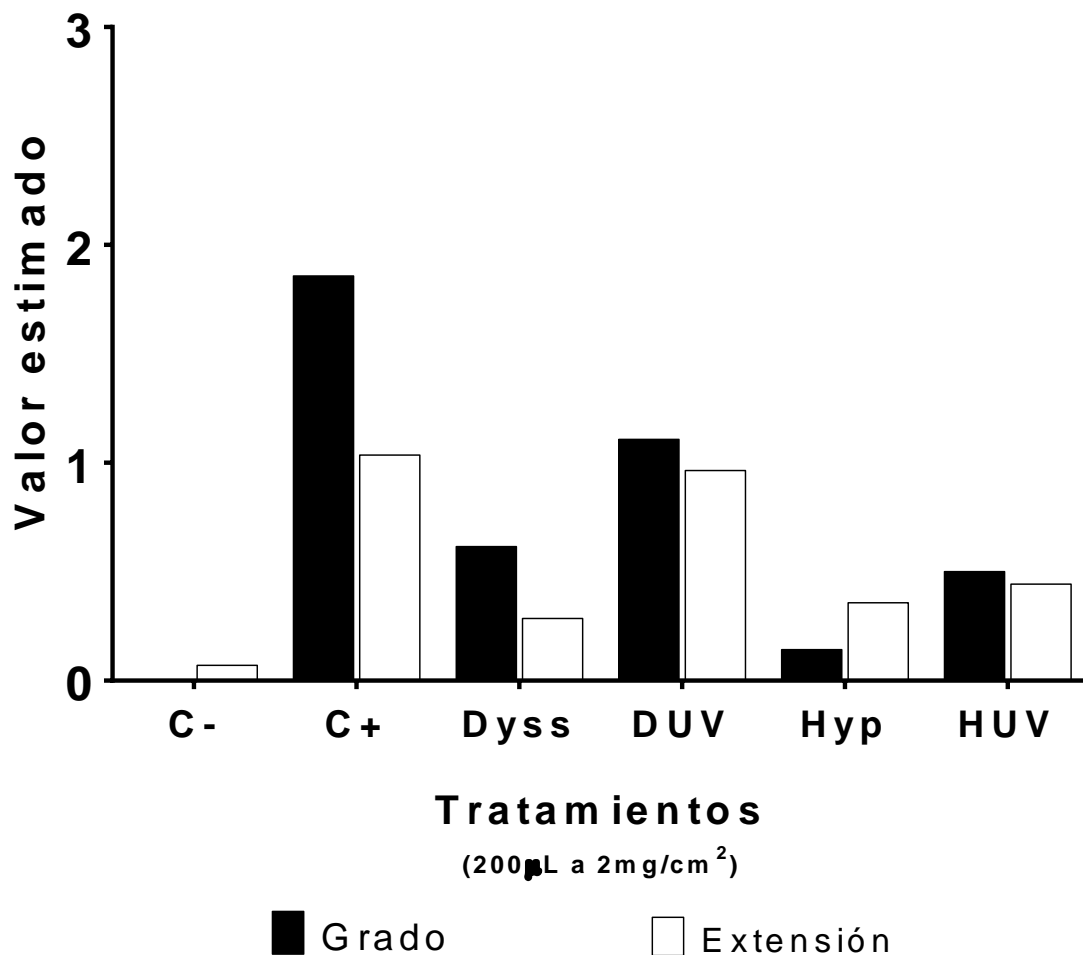
Los ratones tratados con el extracto metanólico de *H. mociniana* tuvo una disminución del enrojecimiento inducido por la RUV del 11% en comparación con el C+ (gráfica 3). Los compuestos fenólicos de *H. mociniana* se encuentran en proceso de identificación sin embargo, se sabe que el género *Hyptis* tiene integrantes como *H. pectinata*, *H. verticillata* e *H. matriusii* con propiedades antiedematogénicas por su actividad en el retraso de la aparición de la irritación, de la hemorragia (Picking et al., 2013), en su efecto sobre las vías de la ciclooxigenasa y lipooxigenasa (Franzotti et al., 2001), inhibiendo la liberación de mediadores como histamina, lo que interfiere con la producción de prostaglandinas, etc (Barbosa et al., 2017). El ácido rosmarínico identificado en *H. verticillata* tiene efecto en la estabilización de los capilares sanguíneos, inhibiendo la prostaglandina sintasa y retardando la hemorragia (Picking et al., 2013).

#### 10.4.3 Conclusiones preliminares para la evaluación de eritema en piel de ratones SKH-1 después de una exposición aguda a la RUV

Los ratones protegidos con los extractos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* presentaron una disminución del enrojecimiento cutáneo en comparación con el C- después de un experimento de exposición aguda a la RUV.

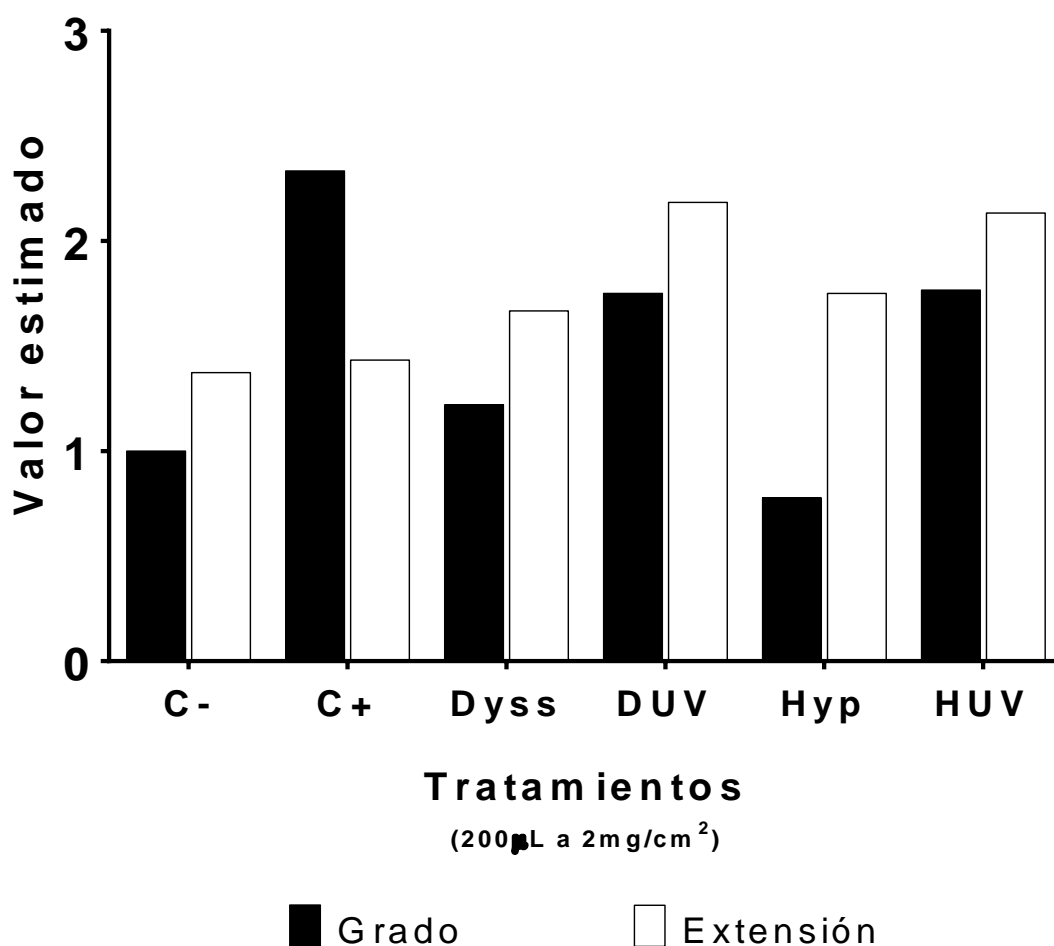
### **10.5 ANÁLISIS HISTOLÓGICO DEL EXPERIMENTO DE EXPOSICIÓN AGUDA A LA RUV EN RATONES SKH-1**

La gráfica 4 muestra que el C- no presentó alteraciones a nivel epidérmico de grado relevante, mientras que el C+ presentó daños epidérmicos como hiperplasia, atrofia o hipertrofia en grado moderado y en extensión focal.



**Gráfica 4.** Grado y extensión de los daños epidérmicos en piel de ratones SKH-1 sin irradiación (C-), sin protección e irradiados (C+), tratados con el extracto metanólico de *D. tagetiflora* sin radiación (Dyss) e irradiados (DUV) y tratados con el extracto metanólico de *H. mociniana* sin irradiación (Hyp) y sometidos a la RUV de forma aguda (HUV). El grado está representado en leve con el número 1, moderado con el número 2 o severo con el número 3. La extensión se representa en tres grados: focal con el número 1, multifocal con el número 2 y difuso con el número 3.

La gráfica 5 muestra que el C- presentó daños dérmicos como inflamatorios expresados a nivel tisular como congestión de vasos sanguíneos, infiltrados inflamatorios o hemorragia en un grado ligero y extensión focal, mientras que el C+ presentó daños inflamatorios en grado y extensión mayor en comparación con el C-.



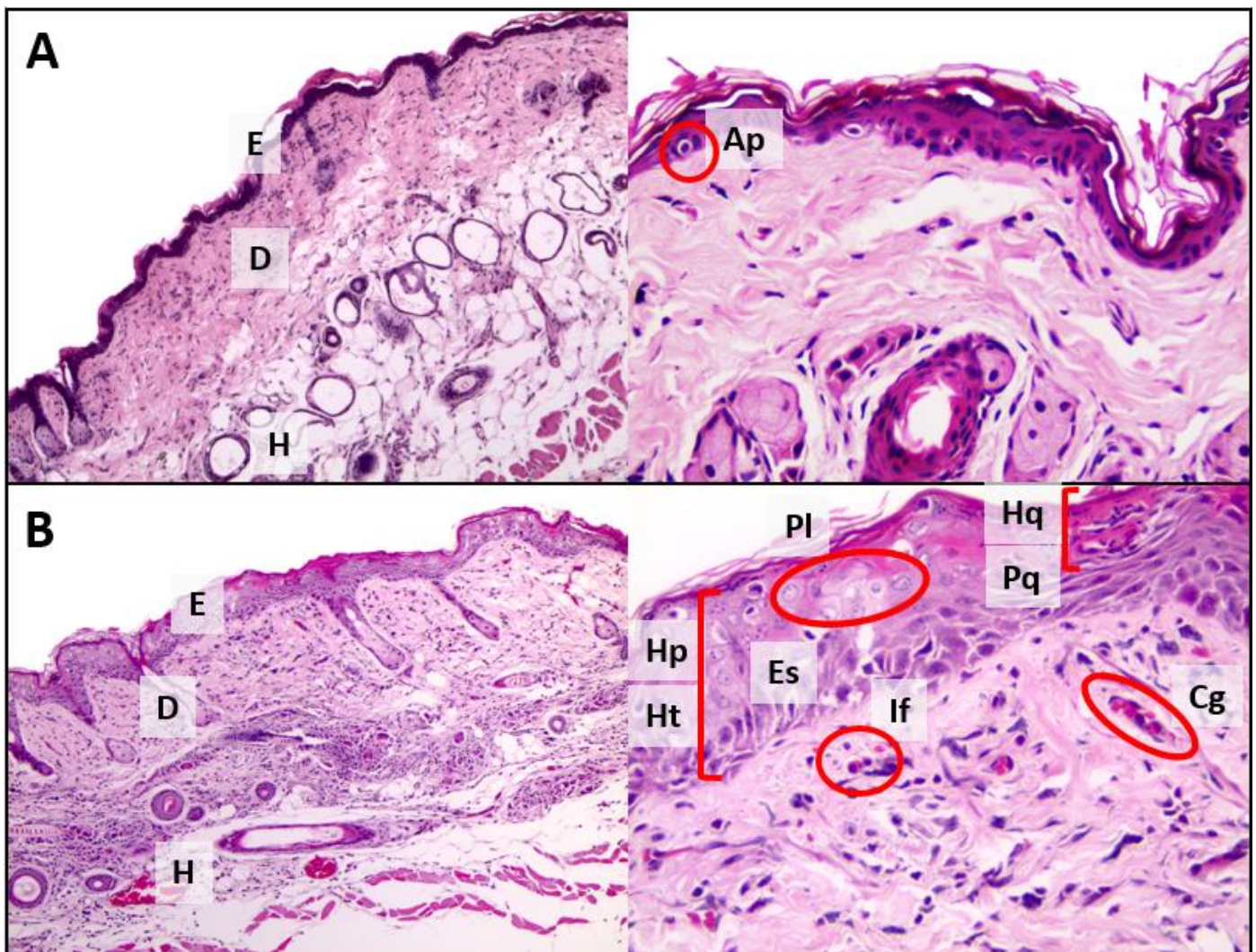
**Gráfica 5.** Grado y extensión de los daños dérmicos en piel de ratones SKH-1 sin irradiación (C-), sin protección e irradiados (C+), tratados con el extracto metanólico de *D. tagetiflora* sin radiación (Dyss) e irradiados (DUV) y tratados con el extracto metanólico de *H. mociniana* sin irradiación (Hyp) y sometidos a la RUV de forma aguda (HUV). El grado está representado en leve con el número 1, moderado con el número 2 o severo con el número 3. La extensión se representa en tres grados: focal con el número 1, multifocal con el número 2 y difuso con el número 3.

La figura 17 muestra las imágenes de la piel de ratones SKH-1 pertenecientes a los controles negativo (C-) en el panel A y positivo (C+) en el panel B, en el que sólo se utilizó etanol al 70% sin y con exposición a la RUV, respectivamente. El panel A muestra una piel de ratón con características normales (Chu, 2014).

El grupo irradiado sin protección (C+) presentó ligeros signos de inflamación inducidos por el vehículo utilizado como control. El etanol es utilizado en tratamientos tópicos, ya que mejora la permeabilidad de la piel hacia los fármacos. Sin embargo, produce ligeras reacciones inflamatorias y células apoptóticas histológicamente visibles consideradas como normales (Neuman et al., 2010). Además, la piel de los ratones SKH-1 utilizados

en este trabajo, tiene la característica de ser más permeable que la de los humanos, lo que aumenta la absorción de este solvente y por lo tanto se facilita el desarrollo de una respuesta inflamatoria a causa del etanol (Benavides et al., 2009).

El C+ (panel B), presenta rasgos característicos de una piel expuesta a la RUV, como eritema causado por la congestión de los vasos sanguíneos de la dermis, con la consecuente hemorragia y liberación de células inflamatorias (Chu, 2014).



**Figura 17.** Comparación histológica de los grupos control. El panel A corresponde al control negativo. El panel B corresponde al control positivo. (E) epidermis. (D) dermis. (H) hipodermis. (Ap) células apoptóticas, (Cg) Congestión de vasos sanguíneos, (Es) espongiosis, (Hp) hiperplasia, (Hq) hiperqueratosis, (Ht) hipertrofia, (If) infiltrados inflamatorios, (Pl) pleomorfismo, (Pq) paraqueratosis. Tinción de hematoxilina-eosina. Aumentos 100X y 400X.

En la piel de los ratones del grupo C+, también se registran cambios en la proliferación celular lo que resulta en daños histológicamente visibles como hiperplasia, atrofia e

hipertrofia. Esto se debe a que la síntesis de macromoléculas como ADN y proteínas, y el proceso y ritmo de la división celular se ven alterados a consecuencia de la radiación UVB (Shea y He, 2014).

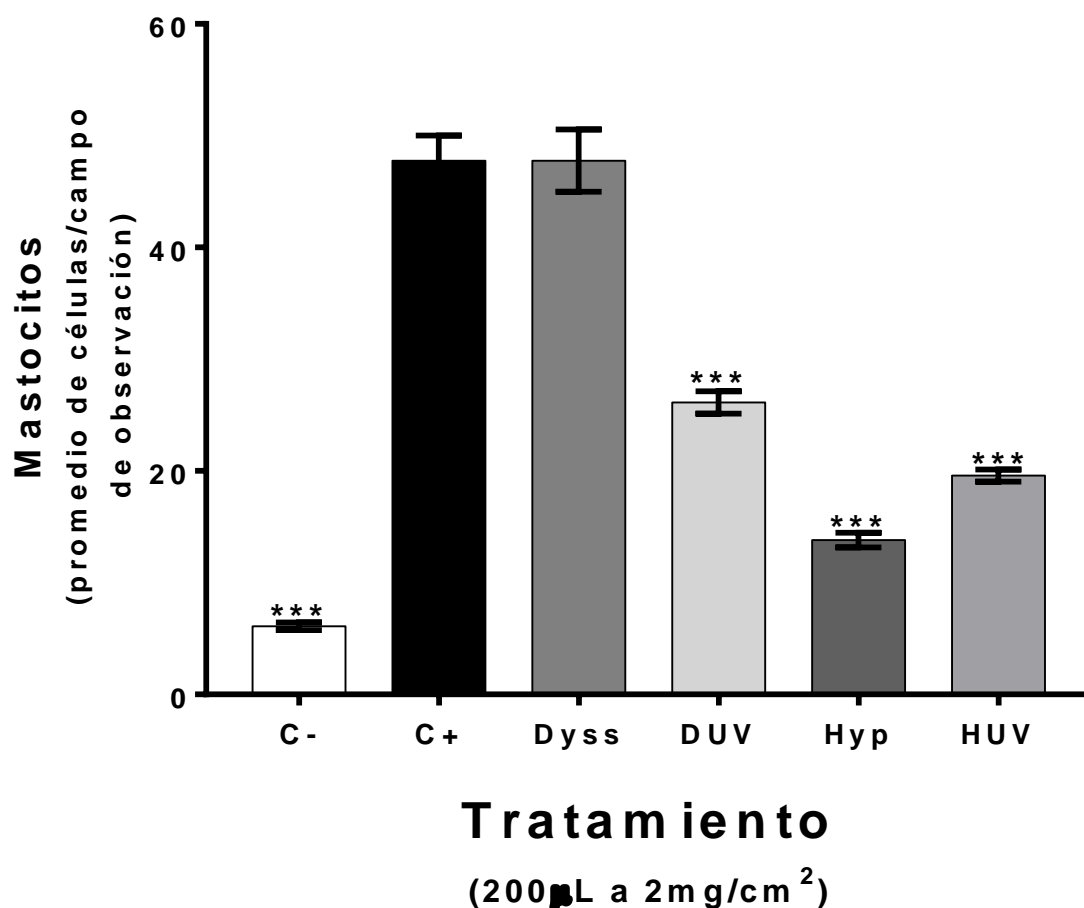
Una característica de la piel expuesta a la RUV es la aparición de células apoptóticas o células de quemadura en la epidermis como un mecanismo de protección contra los efectos carcinogénicos de esta radiación, que elimina células dañadas irreparablemente o transformadas. Existen tres factores que contribuyen independientemente a la activación de la apoptosis inducida por la RUV: daño al ADN, agrupamiento de receptores de membrana y formación de ERO (Claerhout et al., 2006).

El estrés oxidativo inducido por las ERO formadas a causa de la RUV, afecta el funcionamiento normal de procesos inmunológicos y además desencadena una cascada de eventos oxidativos, que incluyen la peroxidación lipídica lo que desestabiliza la membrana celular; la glucosilación proteica y el daño de ácidos nucleicos de las células cutáneas (Sarkany, 2011; Reyes y Vitale, 2013). Todo esto, propicia la formación de más ERO y así se inicia un ciclo perjudicial para la homeostasis del órgano, lo que se observa ampliamente en el grupo irradiado sin protección (C+) de este experimento.

En este experimento de exposición aguda a la RUV, los daños que más se presentaron fueron los inflamatorios, por lo tanto, se realizó el conteo de mastocitos para obtener un mejor panorama sobre la respuesta inflamatoria inducida por la RUV bajo la protección de los extractos metanólicos de *D. taetiflora* e *H. mociniana* (gráfica 6). Se realizó un análisis estadístico (ANOVA de un factor, con un grado de error de 0.05) y una prueba Dunnett de comparación múltiple de medias para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

El conteo de mastocitos demostró que existen diferencias por tratamiento, siendo el C+ el que tuvo el mayor número de estas células por campo de observación. Los tratamientos DUV, Hyp y HUV presentaron una disminución estadísticamente significativa (gráfica 6).

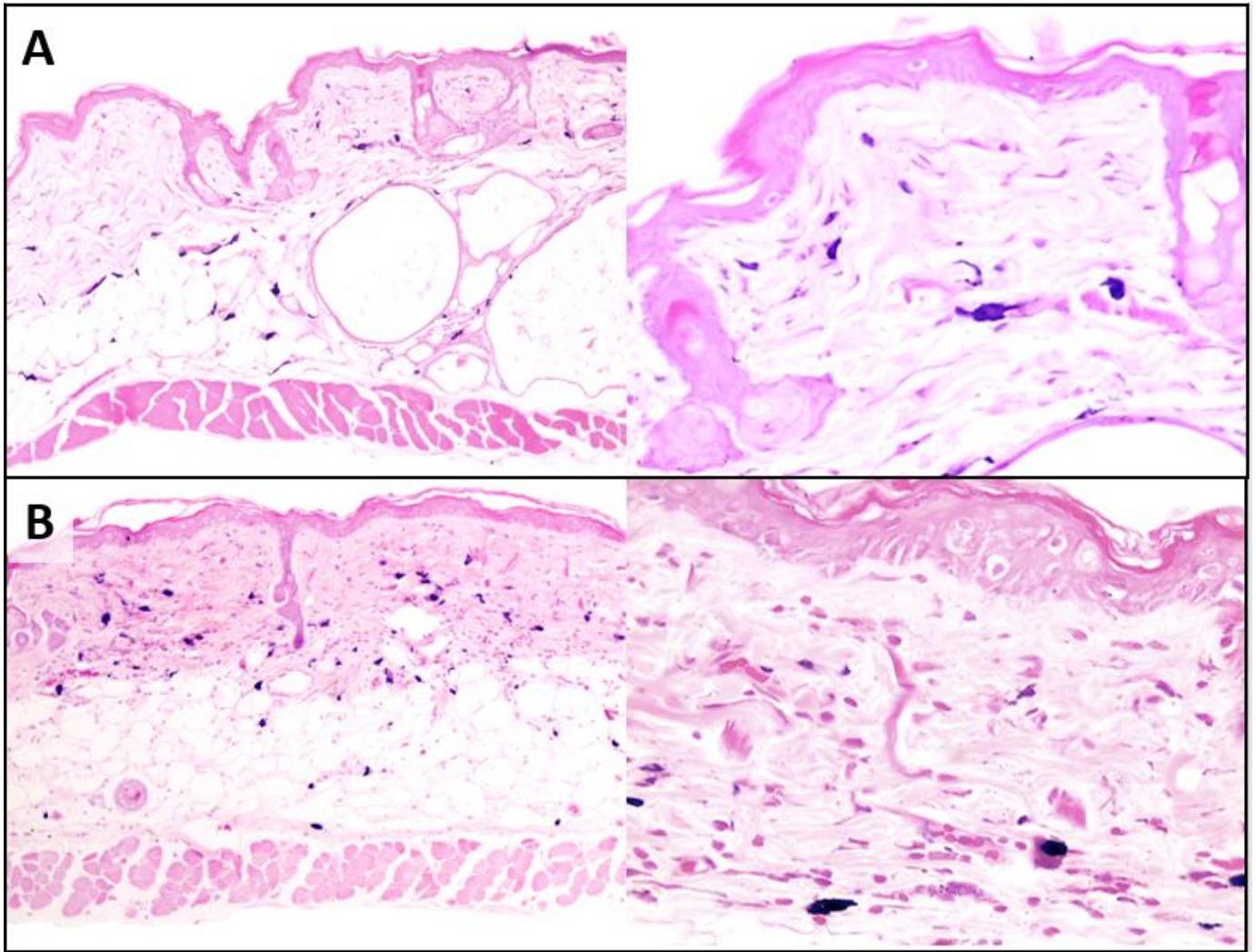




**Gráfica 6.** Número promedio de mastocitos por campo de observación en un experimento de exposición aguda a la RUV. Las barras marcadas con asterisco presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto al control positivo (C+). Grupo no irradiado: C-, grupo irradiado sin protección: C+, tratado con *D. tagetiflora*: Dyss, tratamiento con *D. tagetiflora* con exposición a la RUV: DUV, grupo tratado con *H. mociniana*: Hyp y el grupo tratado con *H. mociniana* y expuesto de forma aguda a la RUV: HUV.

La figura 17 muestra las imágenes de los cortes histológicos con la tinción de Dominicci, correspondientes a los grupos experimentales. Se puede observar que el control negativo (panel A) presenta un número y tamaño de mastocitos menor en comparación al C+ (panel B).

La respuesta inflamatoria es mediada en primera instancia por la presencia y degranulación de los mastocitos que liberan factores inflamatorios a la dermis como citocinas, quimiocinas, mediadores lipídicos, entre otros que contribuyen al reclutamiento de células involucradas en la respuesta inmune ante daño agudo por la RUV (Shea y He, 2014; Cano et al., 2015; Byrne et al., 2015; Prasad y Katiyar, 2017).



**Figura 18.** Comparación histológica de los grupos control. El panel A corresponde al control negativo. El panel B corresponde al control positivo. Los mastocitos se muestran en púrpura. Tinción de Dominici o azul de toluidina. Aumentos 100X y 400X.

Los mastocitos al degranularse, además de histamina, liberan factores inflamatorios como:  $\text{TNF-}\alpha$ , IL-6 y otros que promueven la formación de células de quemadura y la migración de neutrófilos y macrófagos a la zona expuesta a la RUV (Maverakis et al., 2010). Por lo tanto, es importante el monitoreo y número de mastocitos para poder tener un panorama inicial de la respuesta inflamatoria aguda de la piel al ser expuesta a la RUV.

La degranulación de mastocitos es mediada por diversos factores como la RUV, que al incidir en la piel, produce la isomerización del ácido trans-urocánico a cis-urocánico, uno de los responsables de estimular la degranulación de estas células (Hart et al., 2001).

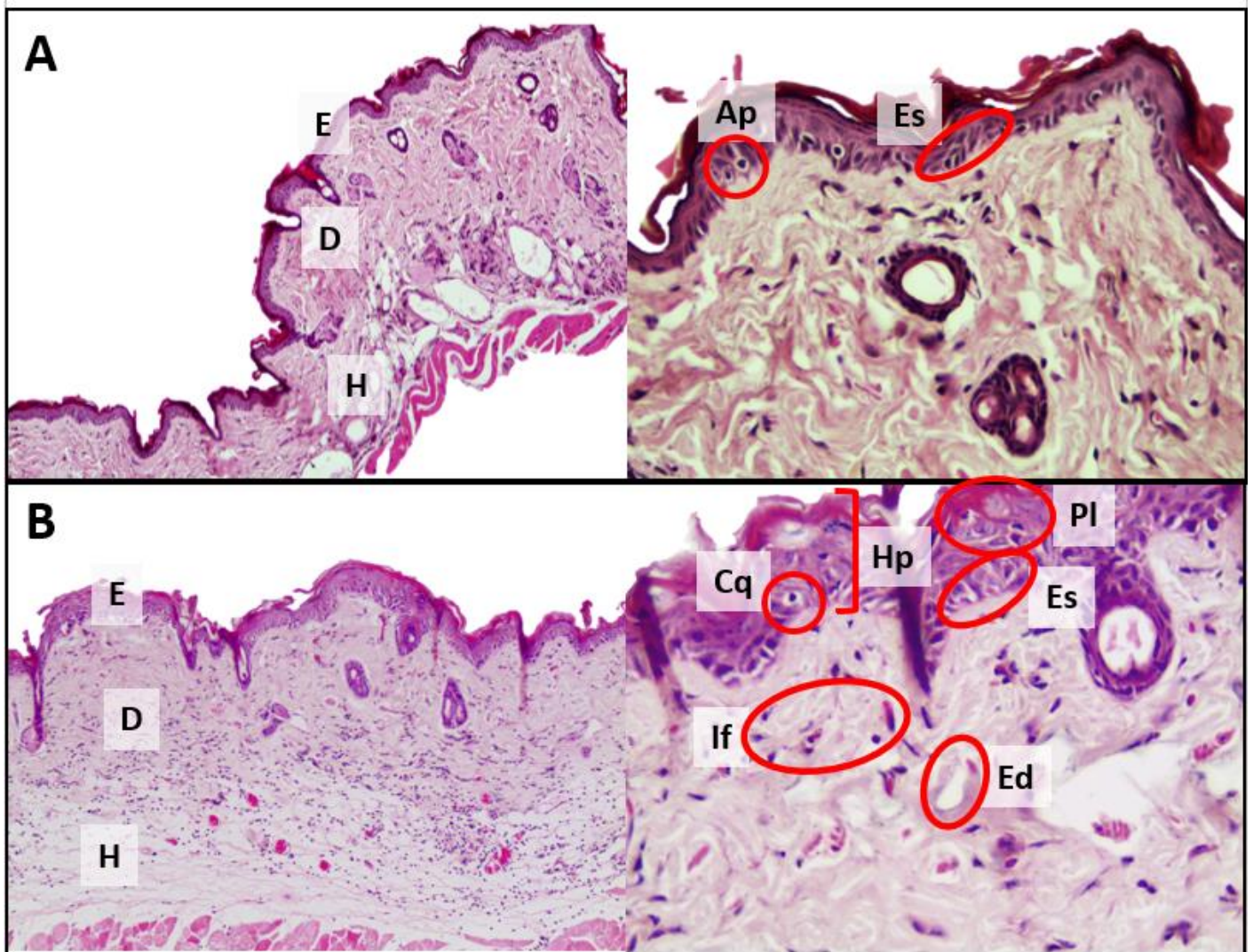
El correcto desempeño de los mastocitos es de suma importancia en la respuesta inflamatoria inducida por la RUV ya que existe una fuerte correlación entre el número de estas células presentes en el tejido y el desarrollo de edema y de forma crónica, cáncer de piel (Hart et al., 2001; Byrne et al., 2015; Schweintzger et al., 2015).

### 10.5.1 Fotoprotección del extracto metanólico de *D. tagetiflora* en piel de ratones SKH-1

La gráfica 4 presenta el grado y extensión de los daños epidérmicos y la gráfica 5 presenta el grado y extensión de los daños dérmicos en los ratones tratados con el extracto metanólico de *D. tagetiflora* con y sin exposición a la RUV. La respuesta inflamatoria que se presenta en el grupo tratado con el extracto de *D. tagetiflora* y expuesto a la RUV, fue moderada y en extensión multifocal a excepción del edema y la congestión de vasos sanguíneos que se presentaron en una extensión focal. El grupo tratado únicamente con el extracto de *D. tagetiflora*, presentó los daños dérmicos de forma similar al grupo irradiado y protegido con el mismo extracto posiblemente como resultado del etanol utilizado como vehículo (figura 18).

La figura 19 presenta los cortes histológicos representativos de la piel tratada con el extracto metanólico de *D. tagetiflora* (panel A). Se observan características de piel normal asociadas a la exposición a un agente externo (etanol) como espongirosis, infiltrados inflamatorios y congestión de vasos sanguíneos (Neuman et al., 2010).

Los ratones tratados con el extracto metanólico de *D. tagetiflora* e irradiados (panel B) presentaron una disminución en los cambios histológicos epidérmicos, como: espongirosis, células de quemadura y cambios en la maduración y proliferación celular como células pleomórficas e hiperplasia. La combinación de estos dos factores (extracto metanólico de *D. tagetiflora* y RUV) demostró tener una actividad antiinflamatoria en la epidermis. A nivel dérmico, se presentó congestión de vasos sanguíneos, hemorragia e infiltrados inflamatorios; los daños en esta capa de la piel se presentaron en mayor grado que en la epidermis.



**Figura 19.** Comparación histológica de los grupos tratados con *D. tagetiflora* sin exposición a la RUV (panel A) y con exposición a la RUV (panel B). (E) epidermis. (D) dermis. (H) hipodermis. (Ap) células apoptóticas, (Cq) células de quemadura, (Ed) edema, (Es) espongirosis, (Hp) hiperplasia, (If) infiltrados inflamatorios, (Pl) pleomorfismo. Tinción de hematoxilina-eosina. Aumentos de 100X y 400X.

Los compuestos presentes en el extracto de *D. tagetiflora* posiblemente actúan como agentes antiinflamatorios y moduladores de procesos celulares. El hiperósido tiene propiedades antiinflamatorias probadas en modelos animales (Su-Jin et al., 2011; Ku et al., 2014). En el caso de la avicularina, se ha reportado que en cultivo celular (SH-SY5Y y PC12) pueden modular la señalización proinflamatoria a través de TNF- $\alpha$  en células neuronales (Park et al., 2018).

El extracto etanólico de *Tagetes erecta* -perteneciente a la misma subtribu que *D. tagetiflora*- presenta gran cantidad compuestos fenólicos, de los cuales identificaron el ácido gálico, galicina, quercetagenina y quercetina. Este último presentó la mayor

actividad antioxidante *in vitro* (Gong et al., 2012). Los extractos de *D. tagetiflora* y de *T. erecta* coinciden en el tipo de compuestos que presentan y en el efecto antioxidante de los mismos, rasgo que se le puede atribuir a la subtribu *Tageteae* a la que ambas especies pertenecen. Los resultados de este experimento se atribuyen a las características mencionadas de los compuestos presentes en el extracto de *D. tagetiflora*. Otra planta que pertenece a la misma subtribu es *T. minuta*, cuyo extracto metanólico presentó compuestos fenólicos con alta capacidad antioxidante y antiinflamatoria en un modelo *in vitro* (Ibrahim et al., 2018).

Es bien sabido que la RUV induce la producción de radicales libres y que, a su vez, estos radicales pueden generar daño celular y tisular. Por lo tanto, es importante que un compuesto fotoprotector cuente con la capacidad de ser antioxidante (Rabinovich y Kazlouskaya, 2018). Este es el caso de los compuestos presentes en el extracto metanólico de *D. tagetiflora* (García-Bores et al., 2018).

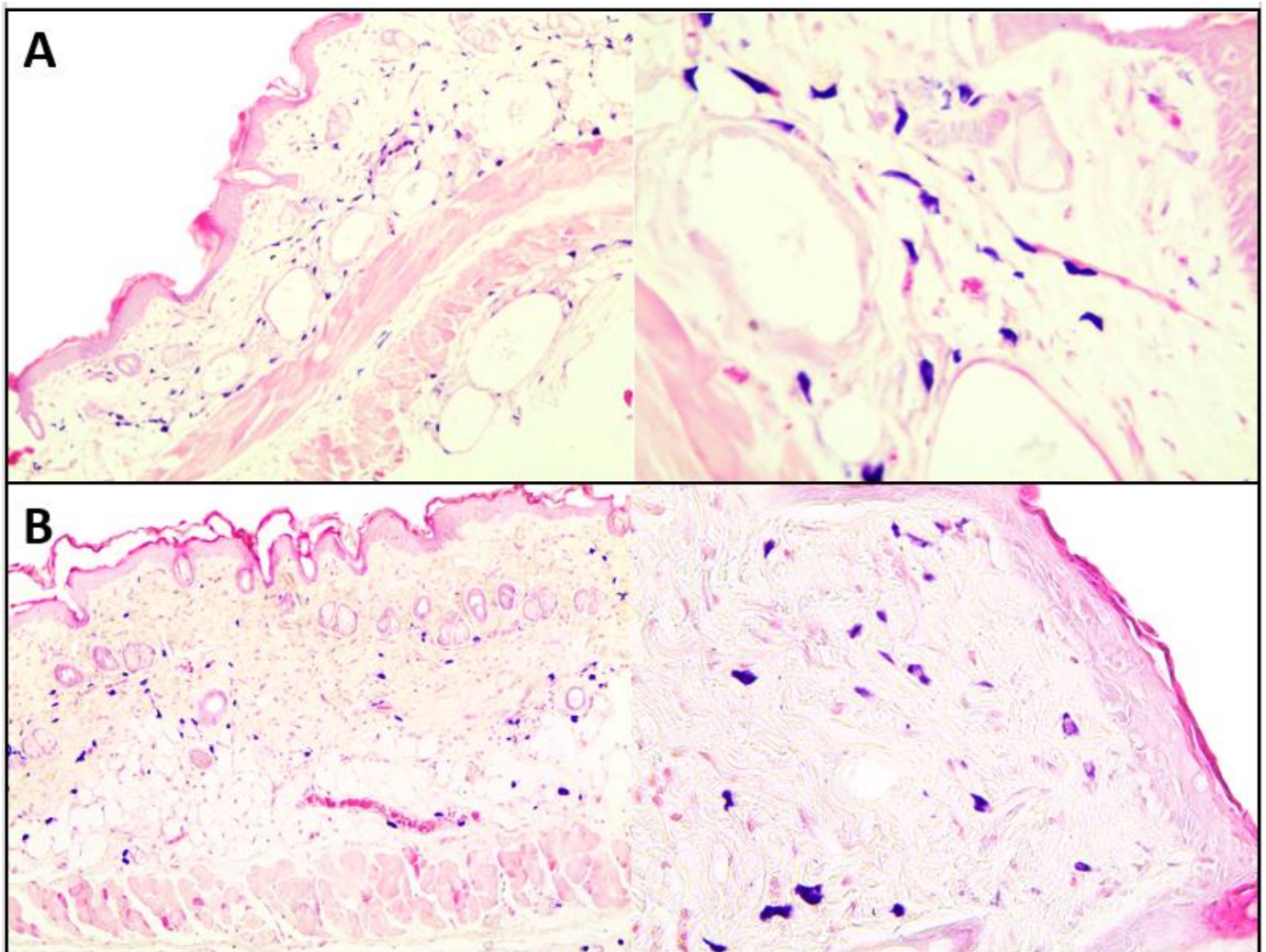
El extracto metanólico de *D. tagetiflora* cuenta con alto contenido de compuestos fenólicos como: hiperósido, avicularina, acetato de avicularina y quercetina, reconocidos por su actividad antioxidante (Williams et al., 2004; Choi et al., 2011; Vo et al., 2012; Ku et al., 2014; Wang et al., 2016; García-Bores et al., 2018) y antiinflamatoria (Williams et al., 2004; Choi et al., 2011; Vo et al., 2012; Ku et al., 2014; Wang et al., 2016) que actúan en contra del estrés oxidativo inducido por la RUV, ya que reducen a los radicales libres, de esta manera se termina la reacción en cadena generada por el aumento de ERO y se reduce el daño a los componentes celulares. Así se bloquea el desarrollo de desórdenes en la proliferación celular. Además, el contenido fenólico de este extracto le permite a la piel activar una respuesta inflamatoria controlada ante el daño causado por la RUV.

El número de mastocitos presentes en la piel tratada con el extracto metanólico de *D. tagetiflora* y expuesta a la RUV disminuyó de forma estadísticamente significativa en comparación con los animales que no recibieron ningún tratamiento (C+) (gráfica 5, figura 20).

Estos resultados indican que el extracto de *D. tagetiflora* podría ser un agente estabilizador de la participación y prevalencia de los mastocitos ante la exposición aguda a la RUV (Hart et al., 2001; Schweintzger et al., 2015), ya que la disminución del número

de estas células presentes en las muestras analizadas nos habla de un tiempo de prevalencia de mastocitos adecuada para el desarrollo de una respuesta inflamatoria controlada.

La inflamación es una respuesta que cuenta con una serie de procesos biológicos que tienen el propósito de proteger al organismo de agentes externos como la RUV (Cano et al., 2015). Los pasos que conlleva este proceso son iniciación y activación. En el primero, los niveles de factores proinflamatorios aumentan y en el segundo los inflamasomas son activados, lo que resulta en la secreción de citocinas proinflamatorias (Yi, 2018). La exposición aguda a la RUV induce el reclutamiento de mastocitos en la piel, participando en el proceso inflamatorio característico de las quemaduras solares (Grimbaldeston et al., 2006).



**Figura 20.** Comparación histológica de la piel de los grupos de ratones SKH-1 tratados con *D. tagetiflora* sin exposición a la RUV (panel A) y con exposición a la RUV (panel B). Los mastocitos se muestran en púrpura. Tinción de Dominici o azul de toluidina. Aumentos 100X y 400X.

Está reportado que *D. tagetiflora* posee compuestos como quercetina, avicularina e hiperósido con actividad antioxidante (Williams et al., 2004; Choi et al., 2011; Vo et al., 2012; Ku et al., 2014; Wang et al., 2016; García-Bores et al., 2018) y antiinflamatoria (Williams et al., 2004; Choi et al., 2011; Vo et al., 2012; Ku et al., 2014; Wang et al., 2016). La disminución en el número de mastocitos en la piel tratada con *D. tagetiflora* antes de la exposición a la RUV confirma la actividad antiinflamatoria de los compuestos presentes en este extracto. Los mastocitos participan en la fototolerancia o inmunosupresión inducida por la RUV, por lo tanto, están relacionados directamente con el riesgo de desarrollar cáncer de piel (Grimbaldeston et al., 2006; Schweintzger et al., 2015). Existen reportes sobre la resistencia de ratones con deficiencia de mastocitos ante la inmunosupresión inducida por la RUV, sin embargo, presentaron un intenso comportamiento de rascado en comparación con los controles. Esta respuesta es dependiente de la presencia de los mastocitos (Schweintzger et al., 2015).

El extracto metanólico de *T. minuta*, posee compuestos fenólicos con alta actividad antioxidante y antiinflamatoria, ya que reduce los niveles de expresión de citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$  e IL-6 de manera estadísticamente significativa (Ibrahim et al., 2018). Estas citocinas en conjunto con el aumento en los niveles de ERO en piel expuesta a la RUV, promueven la expresión de diferentes metaloproteinasas de matriz (MMP) que son responsables de la degradación de la matriz extracelular en el tejido conectivo. Esta degradación es crucial en la pérdida de la integridad del colágeno y elastina presentes en la piel, lo que conlleva a la formación de arrugas y a la pérdida de firmeza en este órgano, es decir, fotoenvejecimiento cutáneo (Feng et al., 2014).

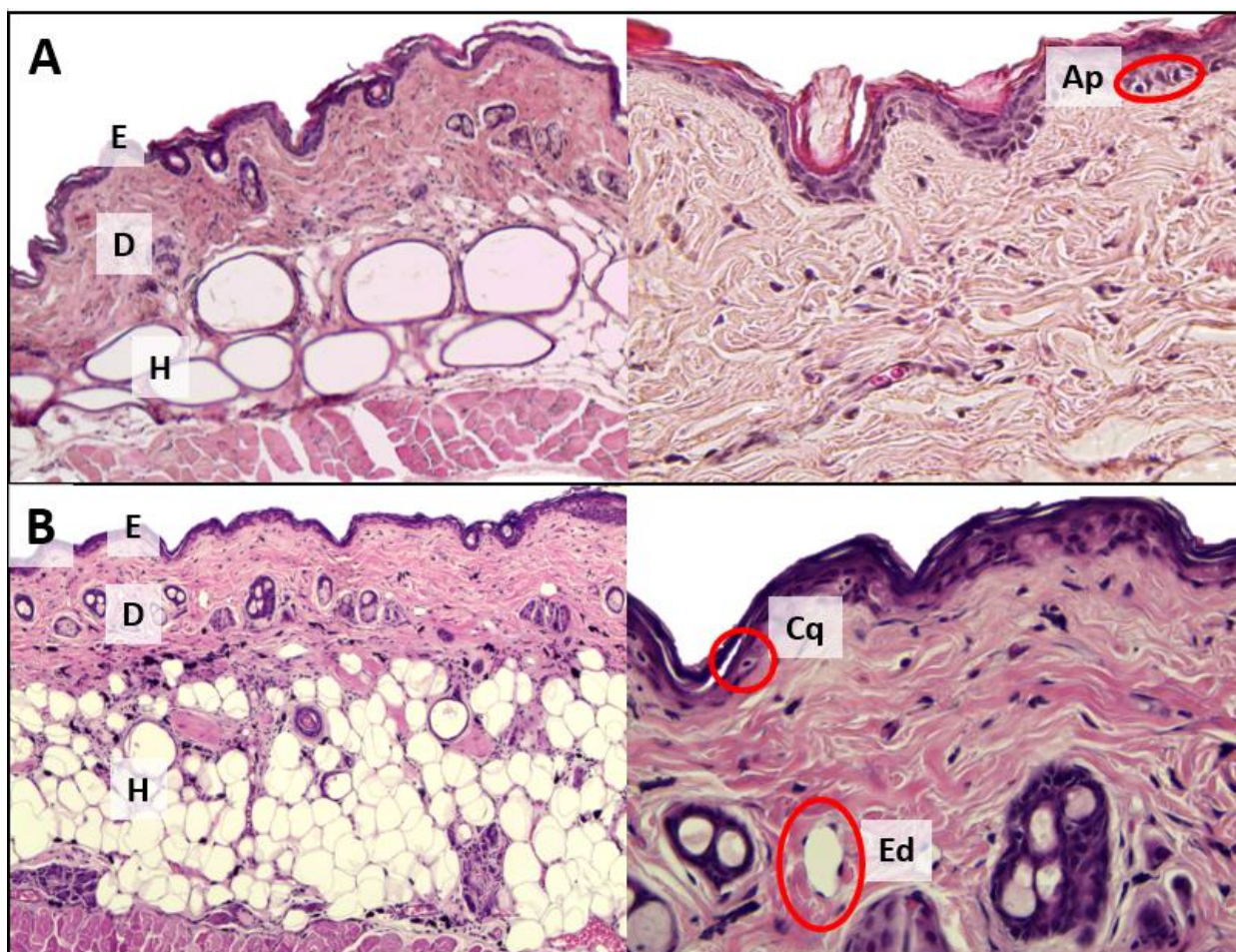
A pesar de no conocer el mecanismo de acción de los compuestos identificados en el extracto metanólico de *D. tagetiflora*, con los antecedentes mencionados, es posible inferir que este extracto posee actividad antiinflamatoria que pudiera estar actuando sobre las vías de señalización involucradas en el fenómeno de degranulación de los mastocitos y de esta manera, disminuir las consecuentes respuestas histológicamente visibles.

## 10.5.2 Fotoprotección del extracto metanólico de *H. mociniana* en piel de ratones SKH-1

La gráfica 4 muestra el grado y extensión de los daños epidérmicos y en la gráfica 5 se muestran los dérmicos de los ratones tratados con *H. mociniana* e irradiados con RUV. El grupo tratado con el extracto de *H. mociniana* no presentó ninguna alteración epidérmica significativa. Los signos inflamatorios dérmicos se presentaron de forma focal a causa del solvente utilizado como vehículo (Neuman et al., 2010). La respuesta inflamatoria dérmica del grupo tratado con el extracto metanólico de *H. mociniana* y expuesto a la RUV se presentó de forma multifocal a excepción de la hemorragia que fue focal. Los daños epidérmicos registrados para este grupo se presentaron de forma focal.

La figura 21 muestra que la piel tratada con el extracto metanólico de *H. mociniana* (panel A) presenta las características de piel normal sin irradiación. Se observan ligeros signos inflamatorios, esto gracias a que el solvente utilizado como vehículo, el etanol, induce eritema local y la liberación de citocinas proinflamatorias y aparición de células apoptóticas, signos visibles a nivel histológico (Neuman et al., 2010). En el panel B, este extracto demostró tener actividad fotoprotectora y antiinflamatoria en piel de ratones SKH-1 expuestos de forma aguda a la RUV; ya que la piel protegida con este extracto de forma previa a la irradiación presentó una disminución en los cambios histológicos epidérmicos con respecto al grupo de ratones irradiados sin protección (C+), así como en los signos del desarrollo de una respuesta inflamatoria dérmica generada por esta radiación como: edema, infiltrados inflamatorios y congestión de vasos sanguíneos.





**Figura 21.** Comparación histológica de los grupos tratados con *H. mociniana* sin exposición a la RUV (panel A) y con exposición a la RUV (panel B). (E) epidermis. (D) dermis. (H) hipodermis. (Ap) células apoptóticas, (Cq) células de quemadura, (Ed) edema. Tinción de hematoxilina-eosina. Aumentos de 100X y 400X.

Los resultados obtenidos con el extracto metanólico de *H. mociniana* demuestran la capacidad citoprotectora brindada por los compuestos presentes en este extracto (Nolasco, 2018), pueden evitar los daños relacionados con alteraciones en las vías de transducción de señales de proliferación celular (Shea y He, 2014), y que, al mismo tiempo, favorecen el desarrollo de la respuesta inflamatoria controlada (Cano et al., 2015), lo que le permite al tejido reparar los daños inducidos por la acción de la RUV (figura 19).

El género *Hyptis* tiene reportes de presencia de compuestos como: terpenos, flavonoides y lignanos con actividad fotoprotectora, antioxidante y antiinflamatoria (Saewan y Jimtaisong, 2012; dos Santos et al., 2018). *H. martiusii* es una especie que cuenta con antecedentes de su uso como antiedematogénico, por su posible efecto sobre la liberación de mediadores inflamatorios como histamina, inhibición de la producción de

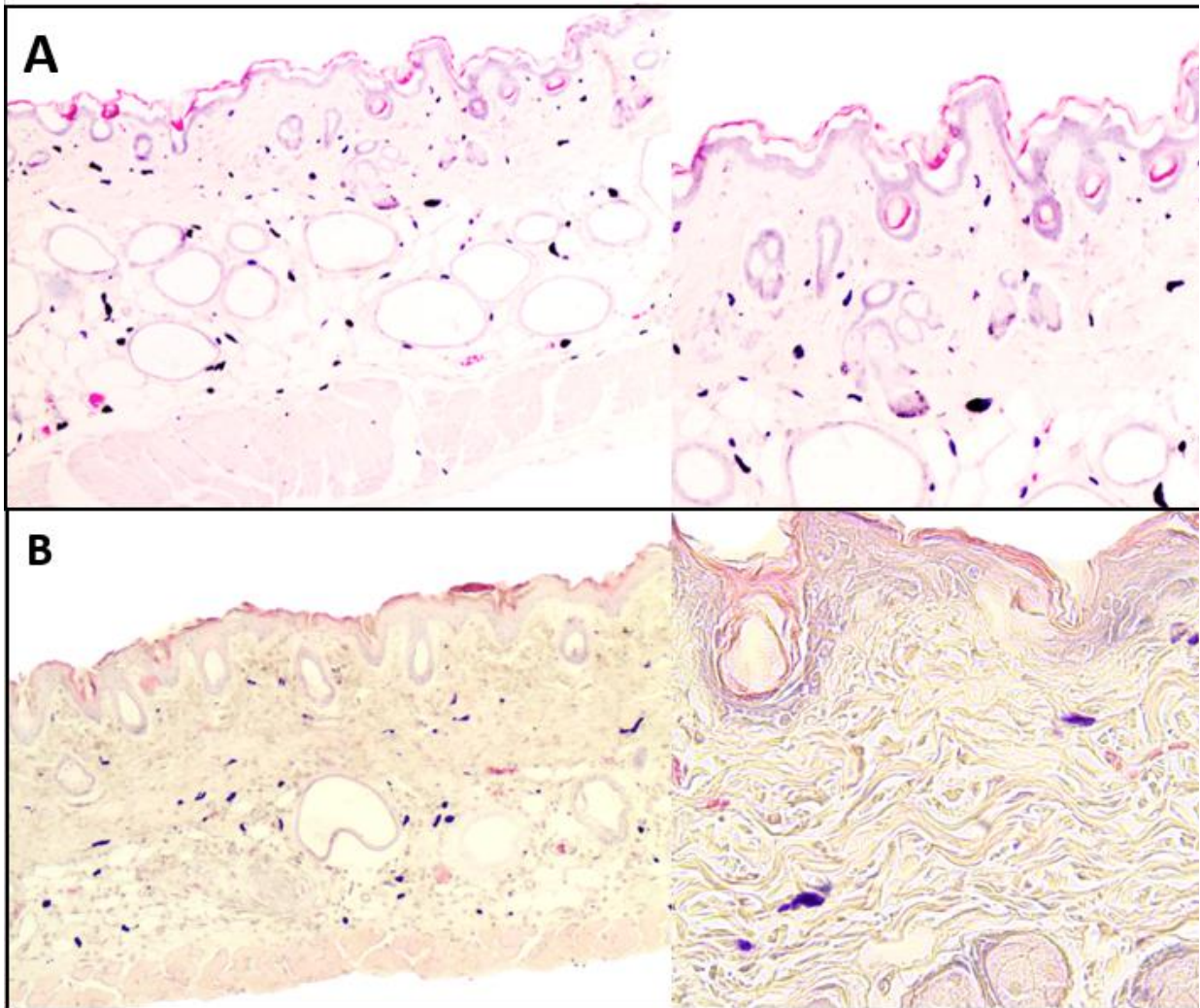
citocinas, leucotrieno B4, tromboxano y prostaglandinas promoviendo un estado proapoptótico, ya que evade los signos de la respuesta inflamatoria como: edema, hiperplasia y expresión de COX-2 (Barbosa et al., 2017).

Es posible que los compuestos presentes en *H. mociniana*, además de su efecto fotoprotector, tengan la capacidad de actuar sobre vías de transducción de señales relacionadas con la respuesta inflamatoria, al igual que *H. martiusii*, y de este modo inducir el efecto antiedematogénico observado en este experimento.

El extracto metanólico de *H. mociniana* presentó actividad antiinflamatoria y disminuyó número de mastocitos con respecto al C+ (figura 22). Este efecto corresponde con lo reportado por Barbosa sobre la actividad antiinflamatoria y antiedematogénica de *H. matiusii* (Barbosa et al., 2017).

La disminución en el número de mastocitos presentes en las muestras analizadas coincide con lo descrito por Picking en 2013 sobre la actividad antiinflamatoria de *H. verticillata* que retrasó el fenómeno de la inflamación y hemorragia, estabilizó la permeabilidad capilar e inhibió la enzima prostaglandina sintasa en ratones. Este autor reporta que dos de sus compuestos más activos son el polifenol ácido rosmarínico y el flavonoide sideritoflavona.

A pesar de que el mecanismo de acción del extracto metanólico de *H. mociniana* no se conoce, los antecedentes con plantas del mismo género hacen suponer que la respuesta antiinflamatoria podría ser similar a la de *H. mociniana*, estabilizando la presencia y actividad de los mastocitos, ya que estos, al degranularse en un proceso inflamatorio, aumentan la permeabilidad capilar y liberan factores quimio atrayentes para células inflamatorias (Picking et al., 2013). Por lo tanto, el extracto metanólico de *H. mociniana* podría estar evitando la permeabilidad capilar y por consecuencia, también podía estar actuando como agente antiinflamatorio.



**Figura 22.** Comparación histológica de los grupos tratados con *H. mociniana* sin exposición a la RUV (panel A) y con exposición a la RUV (panel B). Los mastocitos se muestran en púrpura. Tinción de Dominici o azul de toluidina. Aumentos 100X y 400X.

La prevalencia de mastocitos en el tejido es un factor de predisposición al desarrollo de carcinoma basocelular ya que uno de los mecanismos de acción de los mastocitos al degranularse, es la activación de MMPs que se encargan de degradar la matriz extracelular y así facilitar la infiltración de las células participantes en el proceso agudo. Sin embargo, si este proceso no se lleva a cabo adecuadamente, los mecanismos de acción de los mastocitos pueden desencadenar daños celulares y tisulares que resulten en el desarrollo de tumores (Hart et al., 2001; Cano et al., 2015).

Está reportado que los mastocitos, en un escenario de sobreexpresión de la respuesta inflamatoria, pueden generar inmunosupresión y crear un microambiente idóneo para el desarrollo de tumores (Liu-Smith et al., 2017). Por lo tanto, los agentes que logren

estabilizar la participación de los mastocitos después de la exposición a la RUV tienen alto potencial como fotoprotectores (Hart et al., 2001).

### 10.5.3 Conclusiones preliminares para el análisis histológico de fotoprotección en piel de ratones SKH-1

La presencia de células de quemadura, edema e infiltrados inflamatorios fue constante en la totalidad del área evaluada tanto en la piel de ratones tratada con los extractos metanólicos de *D. tagetiflora* como con el de *H. mociniana* y sometida a la RUV.

Los extractos metanólicos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* redujeron en grado y extensión los daños epidérmicos sin afectar el desarrollo de la respuesta inflamatoria inducida por la RUV.

Sarkany reporta que la piel expuesta de manera aguda a la RUV tiene una respuesta inflamatoria caracterizada por engrosamiento de la epidermis, calor, hinchazón o tumefacción, enrojecimiento, aparición de queratinocitos apoptóticos y de neutrófilos (Sarkany, 2011). Estos daños corresponden con los resultados obtenidos en este trabajo a excepción del engrosamiento de la epidermis (para su estudio histológico, se evaluó la presencia de hiperqueratosis, hiperplasia e hipertrofia) que sólo fue encontrada en el control positivo. Esto nos habla de que los extractos metanólicos de *D. tagetiflora* y *H. mociniana* evitaron que la energía de la RUV descontrolara los procesos celulares naturales sin evitar el desarrollo de la respuesta inflamatoria reparadora de los daños inducidos normalmente por la RUV.

En el análisis histológico general y en el conteo de mastocitos, se puede observar que la piel de ratones SKH-1 expuesta a la RUV sin protección (C+) presentó la mayor cantidad de signos inflamatorios, de daños relacionados a un desorden en los procesos celulares (como hiperqueratosis, hipertrofia, hiperplasia, etc.) y el mayor número de mastocitos de todos los grupos evaluados en comparación con los grupos tratados con los extractos metanólicos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana*.

---

## 11. CONCLUSIONES

---

- Los extractos de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* ejercieron efecto fotoprotector sobre queratinocitos humanos HaCaT y no mostraron efecto citotóxico.
- La penetración del extracto metanólico de *D. tagetiflora* e *H. mociniana* en la piel de ratones SKH-1 fue baja.
- La aplicación tópica del extracto metanólico de *D. tagetiflora* disminuyó el enrojecimiento cutáneo, el daño tisular y favoreció el desarrollo de una respuesta inflamatoria controlada por medio del leve decremento del número de mastocitos presentes en dermis, ejerciendo un ligero efecto fotoprotector y antiinflamatorio sobre piel de ratones SKH-1 en un experimento agudo de fotoprotección.
- La aplicación tópica del extracto metanólico de *H. mociniana* disminuyó el enrojecimiento cutáneo relacionado al eritema solar, evitó los daños histológicos inducidos por exposición a la RUV e indujo una importante reducción en el número de mastocitos dérmicos y, por lo tanto, también indujo la disminución de la respuesta inflamatoria inducida por la exposición aguda a la RUV.

---

## 12. BIBLIOGRAFÍA

---

- Afaq, F. Natural agents: Cellular and molecular mechanisms of photoprotection. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2011; 508(2), 144-151.
- Afaq, F., Katiyar, S. K. P. Polyphenols: skin photoprotection and inhibition of photocarcinogenesis. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2012; 11(14), 1200–15.
- Afaq, F., Khan, N., Syed, D. N., y Mukhtar, H. Oral feeding of pomegranate fruit extract inhibits early biomarkers of UVB radiation-induced carcinogenesis in SKH-1 hairless mouse epidermis. *Photochemistry and Photobiology*, 2010; 86(6), 1318–1326.
- Alonso-Castro, A. J., Villarreal, M. L., Salazar-Olivo, L. A., Gomez-Sanchez, M., Dominguez, F., Garcia-Carranca, A. Mexican medicinal plants used for cancer treatment: Pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011; 133(3), 945-972.
- Al-Sereiti, M. R., Aby-Amer, K. M., Sen, P. Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) *Indian Journal of Experimental Biology*, 1999, 37(2), 124-130.
- Arenas Guzmán, R. (2015). La piel. En *Dermatología* (6º, pp 1-25). Ciudad de México: McGraw Hill.
- Avila Acevedo, J. G., Espinosa-González, A. M., De María y Campos, D. M., Benitez Flores, J. del C., Hernández Delgado, T., Flores Maya, S., Campos Contreras, J., Muños López, J. L., García-Bores, A. M. Photoprotection of *Buddleja cordata* extract against UVB-induced skin damage in SKH-1 hairless mice. *MBC Complementary and Alternative Medicine*, 2014; 14(281), 1–9.
- Bakar, F., Acikara, O. B., Ergene, B., Nebioglu, S., y Saltan Citoglu, G. Antioxidant Activity and Phytochemical Screening of Some Asteraceae Plants. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015; 12(2), 123–132.
- Barbosa, A. G. R., Oliveira, C. D. M., Lacerda-Neto, L. J., Saraiva, D. A., Costa, G. M., Vidal, C. S., Coutinho, H. D. M., Galvao, H. B. F., Menezes, I. R. A. Evaluation of chemical composition and antiedematogenic activity of the essential oil of *Hyptis martiusii* Benth. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2017; 24, 355–361.
- Baron, E. D., y Suggs, A. K. Introduction to photobiology. *Dermatologic Clinics*, 2014; 32(3), 255 –266.
- Baroni, A., Buommino, E., De Gregorio, V., Ruocco, E., Ruocco, V., y Wolf, R. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. *Clinics in Dermatology*, 2012; 30(3), 257-262.

- Benavides, F., Oberyszyn, T. M., VanBuskirk, A. M., Reeve, V. E., y Kusewitt, D. F. The hairless mouse in skin research. *Journal of Dermatological Science*, 2009; 53(1), 10-18.
- Blanpain, C., y Fuchs, E. Epidermal Stem Cells of the Skin. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2008; 22, 339-373.
- Buchanan, B., Gruissem, W., Jones, R. (2000) Natural products (secondary metabolites). En *Biochemistry & Molecular Biology of Plants* (pp 1250-1318). Oxford, UK: Wiley Blackwell.
- Byrne, S. N., Hammond, K. J. L., Chan, C. Y.-Y., Rogers, L. J., Beaugie, C., Rana, S., Marsh-Wakefield, F., Thurman, J. M., Halliday, G. M. The alternative complement component factor B regulates UV-induced oedema, systemic suppression of contact and delayed hypersensitivity, and mast cell infiltration into the skin. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2015; 14(4), 801-806.
- Cabral, C., Cavaleiro, C., Gonçalves, M. J., Cruz, M. T., Lopes, M. C., Salgueiro, L. *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link as a source of a bioactive and fragrant oil. *Industrial Crops and Products*, 2013; 43(1), 484-489.
- Cano, L. E., Rojas, W., Aaristizábal, B., Gómez, L. M., Lopera, D. (2015). Inflamación. En *Inmunología de Rojas* (84-108). Medellín, Colombia: CIB.
- Castell Rodríguez, A. E., Herrera Enríquez, M. A., y Campos Muñoz, A. (2010). Piel y Anexos. En: *Histología y biología celular*. (197-210) Ciudad de México: McGraw Hill Interamericana Editores.
- Charles River Laboratories (2018). SKH-1 Hairless Mouse. Charles River Laboratories. Recuperado de: <http://goo.gl/X4AtyC>. (Fecha de consulta: 30 de septiembre de 2018).
- Choi, J. H., Kin, D. W., Yun, N., Choi, J. S., Islam, D. N., Kin, Y. S., Lee, S. M. Protective Effects of Hyperoside against Carbon Tetrachloride-Induced Liver Damage in Mice. *Journal of Natural Products*, 2011; 74, 1055-1060.
- Chu, D. (20114). Desarrollo y estructura de la piel. En: *Fitzpatrick. Dermatología en Medicina Tomo II* (8va ed., pp. 58–75). Editorial Médica Panamericana. *Tomo II* (8va ed., pp. 58–75). Ciudad de México: Editorial Médica Panamericana.
- Claerhout, S., Van Laethem, A., Agostinis, P., y Garmyn, M. Pathways involved in sunburn cell formation: deregulation in skin cancer. *Photochemical & photobiological sciences*, 2006; 5(2), 199–207.
- Coutinho, H. D. M., Costa, J. G. M., Lima, E. O., Siqueira-Júnior, J. P. *In vitro* phototoxic activity of *Eugenia jambolana* L. and *Hyptis maartiusii* Benth. *Journal of*

- Photochemistry and Photobiology B*, 2009; 96(1), 63-65.
- Da Violante, G. Zerrouk, N., Richard, I., Provot, G., Chaumeil, J. C., Arnaud, P. Evaluation of the Cytotoxicity Effect of Dimethyl Sulfoxide (DMSO) on Caco2/TC7 Colon Tumor Cell Cultures. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2002; 25(12), 1600-1603.
- Di Franceso, S., Savio, M., Bloise, N., Barroni, G., Stivala, L. A., y Borroni, R. G. Red grape (*Vitis vinifera* L.) flavonoids down-regulate collagen type III expression after UV-A in primary human dermal blood endothelial cells. *Experimental Dermatology*, 2018; 27(9), 973-980.
- Domínguez-Vázquez, G., y Castro-Ramírez, A. Usos medicinales de la familia Labiatae en Chiapas, México. *Etnobiología*, 2002; 2,19-31.
- dos Santos, K. P., Sedano-Partida, M. D., Sala-Carvalho, W. R., Loureiro, B. O. S. J., da Silva-Luz, C. L., y Furlan, C. M. Biological activity of *Hyptis* Jacq. (*Lamiaceae*) is determined by the environment. *Industrial Crops and Products*, 2018; 112, 705-715.
- Duncan, K. O., Geisse, J. K., y Leffell, D. J. (2003). Lesiones epiteliales precancerosas. En Fitzpatrick. *Dermatología en Medicina General. Tomo II* (7a ed., pp. 1007–1027). Ciudad de México: Editorial Medica Panamericana.
- Ebrahimzadeh, M. A., Enayatifard, R., Khalili, M., Ghaffarloo, M., Saeedi, M., y Charati, J. Y. Correlation between sun protection factor and antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some medicinal plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2014; 13(3), 1041–1048.
- Elmets, C. A., Cala, C. M., y Xu, H. Photoimmunology. *Dermatologic Clinics*, 2014; 32(3), 277–290.
- Elder, D., Elenistas, R., Jaworsky, C., Johnson, B. Lever's Histopathology of the skin. 8va edición, USA: Lippincott-Raven, 1997.
- Espinosa-González, A. M. (2016). Evaluación del efecto fotoquimioprotector del verbascósido en ratones SKH-1 irradiados con luz ultravioleta. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Eyerich, S., Eyerich, K., Traidl-Hoffmann, C., y Biedermann, T. Cutaneous Barriers and Skin Immunity: Differentiating A Connected Network. *Trends in Immunology*, 2018; 39(4), 315–327.
- Feng, X. X., Yu, X. T., Li, W. J., Kong, S. Z., Liu, Y. H., Zhang, X., Xian, Y. F., Zhang, X. J., Su, Z. R., Lin, Z. X. Effects of topical application of patchouli alcohol on the UV-induced skin photoaging in mice. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2014; 63, 113–123.
- Fisher, B. L. y Hendler, C. (2018). Are Vaccines Linked to Increase in Mast Cell Disease



and Allergies?. Health Impact News. Recuperado de <https://healthimpactnews.com/2018/are-vaccines-linked-to-increase-in-mast-cell-disease-and-allergies/>

- Franzotti, E. M., Bomfim, K. B. R., Moreno, M. P. N., Marchioro, M., y Antonioli, A. R. Antinociceptive and antiedematogenic effects of the aqueous extract of *Hyptis pectinata* leaves in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 2001; 76, 81–86.
- García-Bores, A. M., Arciniegas-Arciniegas, A., Reyna-Campos, A., Céspedes-Acuña, C., Avila-Suárez, B., Alarcón-Enos, J., Flores-Maya, S., Espinosa-González, A. M., de Vivar-Romo, A. R. Phytochemical Composition and Biological Activities of *Dyssodia tagetiflora* Lag. *Chemistry & Biodiversity*, 2018; 15(2).
- García-Bores, A. M., y Avila, J. G. Natural Products: Molecular Mechanisms in the Photochemoprevention of Skin Cancer. *Revista Latinoamericana de Química*, 2008; 36(3), 83–102.
- García Meijide, J. A., y Gómez-Reino Carnota, J. J. (2000). Fisiopatología de la ciclooxigenasa-1 y ciclooxigenasa-2. *Revista Española de Reumatología*, 27(1), 1–40. Recuperado de: <http://www.elsevier.es/es-revista-revista-espanola-reumatologia-29-articulo-fisiopatologia-ciclooxigenasa-1-ciclooxigenasa-2-8546>
- Ghaffari, H., Ghassam, B. J., y Prakash, H. S. Hepatoprotective and cytoprotective properties of *Hyptis suaveolens* against oxidative stress-induced damage by CCl<sub>4</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2012; 5(11), 868–874.
- Gilaberte, Y., y González, S. Novedades en fotoprotección. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 2010; 101(8), 569-672.
- Goettsch, W., Hurks, H. M. H., Garssen, J., Mommas, A. M., Slob, W., Hoekman, J., Pierik, F., Roholl, P. J. M., Loveren, H. V. Comparative immunotoxicology of ultraviolet B exposure I. Effects of in vitro and in situ ultraviolet B on the functional activity and morphology of Langerhans cells in the skin of different species. *British Journal of Dermatology*, 1998; 139, 230-238.
- Gong, Y., Liu, X., He, W. H., Xu, H. G., Yuan, F., y Gao, Y. X. Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue. *Fitoterapia*, 2012; 1083(3), 481–489.
- Grimbaldeston, M. A., Finlay-Jones, J. J., y Hart, P. H. Mast cells in photodamaged skin: what is their role in skin cancer?. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2006; 5, 177-183.
- Gutierrez-Lugo, M. T., Barrientos-Benítez, T., Luna, B., Ramirez-Gama, R. M., Bye, R.,

- Linares, E., y Mata, R. Antimicrobial and cytotoxic activities of some crude drug extracts from Mexican medicinal plants. *Phytomedicine*, 1996; 2(4), 341–347.
- Halake, K., Birajdar, M., Lee, J. Structural implications of polyphenolic antioxidants. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2016; 35, 1-7.
- Hanan Alipi, A. M., Mondragón Pichardo, J., Vibrans, H., y Tenorio Ledezma, P. (2009). Malezas de México. Recuperado de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/lamiaceae/hyptis-mociniana/fichas/ficha.htm#1>.
- Hart, P. H., Grimbaldeston, M. A., y Finlay-jones, J. J. Brief Review Sunlight , Immunosuppression and Skin Cancer : Role of Histamine and Mast Cells. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2001; 28, 1–8.
- Hatahet, T., Morille, M., Hommass, A., Devoisselle, J. M., Müller, R. H., y Bégu, S. Quercetin topical application , from conventional dosage forms to nanodosage forms. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2016; 108, 41–53.
- Huang, H., y Liaw, E. Extraction Optimization of Flavonoids from *Hypericum formosanum* and Matrix Metalloproteinase-1 Inhibitory Activity. *Molecules*, 2017; 22, 1-12.
- Ibrahim, S. R. M., Abdallah, H. M., El-Halawany, A. M., Esmat, A., y Mohamed, G. A. Thiotagetin B and tagetannins A and B, new acetylenic thiophene and digalloyl glucose derivatives from *Tagetes minuta* and evaluation of their in vitro antioxidative and anti-inflammatory activity. *Fitoterapia*, 2018; 125, 78–88.
- Jesus, N. Z. T., Falcao, H. S., Lima, G. R. M., Caldas Filho, M. R. D., Sales, I. R. P., Gomes, I. F., Santos, S. G., Tavares, J. F., Barbosa-Filho, J. M., Batistaa, L. M. *Hyptis suaveolens* (L.) Poit (*Lamiaceae*), a medicinal plant protects the stomach against several gastric ulcer models. *Journal of Ethnopharmacology*, 2013; 150(3), 982–988.
- Juárez-Vázquez, M. C., Carranza-Álvarez, C., Alonso-Castro, A. J., González-Alcaraz, V. F., Bravo-Acevedo, E., Chamarro-Tinajero, F. J., Solano, E. Ethnobotany of medicinal plants used in Xalpatlahuac, Guerrero, México. *Journal of Ethnopharmacology*, 2013, 148(2), 521-527.
- Kim, S., You, D. H., Han, T., y Choi, E. M. Modulation of viability and apoptosis of UVB-exposed human keratinocyte HaCaT cells by aqueous methanol extract of laver (*Porphyra yezoensis*). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2015; 141, 301–307.
- Kim, T., Ananthaswamy, H. N., Kripke, M. L., y Ullrich, S. E. Advantages of using hairless mice versus haired mice to test sunscreen efficacy against photoimmune

- suppressions. *Photochemistry and photobiology*, 2003; 78(1), 37–42.
- Kochevar, I. E., Taylor, C. R., y Krutmann, J. (2014). Fundamentos de fotobiología y de fotoimmunología cutáneas. En *Fitzpatrick. Dermatología en Medicina General* (8°, pp. 1031–1049). Ciudad de México.
- Kohen, E., Santus, R., Hirschberg, J. (1995). Environmental Photobiology. En: *Photobiology*. (137-158). San Diego, California, USA: Academic Press.
- Koirala, N., Thuan, N. H., Ghimire, G. P., Thang, D. Van, y Sohng, J. K. Methylation of flavonoids: Chemical structures, bioactivities, progress and perspectives for biotechnological production. *Enzyme and Microbial Technology*, 2016; 86, 103–116.
- Ku, S., Kwak, S., Kwon, O., y Bae, J. Hyperoside Inhibits High-Glucose-Induced Vascular Inflammation In Vitro and In Vivo. *Inflammation*, 2014; 37(5), 1389–1400.
- Lademann, J., Jacobi, U., Surber, C., Weigmann, H. J., y Fluhr, J. W. The tape stripping procedure -evaluation of some critical parameters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2009; 72(2), 317–323.
- Lai-Cheong, J. E., y McGrath, J. A. Structure and function of skin, hair and nails. *Medicine*, 2017; 45(6), 347–351.
- Lazar, A.J. F., Murphy, G. F. (2015) Piel. En *Patología estructural y funcional* (9°, 1141-1178) Barcelona, España: Elsevier.
- Lee, D., Go, G. W., y Imm, J. Y. Tricin, a methylated cereal flavone, suppresses fat accumulation by downregulating AKT and mTOR in 3T3-L1 preadipocytes. *Journal of Functional Foods*, 2016; 26, 548–556.
- Lee, E. R., Kang, Y. J., Kim, J. H., Lee, H. T., y Cho, S. G. Modulation of apoptosis in HaCaT keratinocytes via differential regulation of ERK signaling pathway by flavonoids. *Journal of Biological Chemistry*, 2005; 280(36), 31498–31507
- Liu-Smith, F., Jia, J., y Zheng, Y. (2017). UV-Induced Molecular Signaling Differences in Melanoma and Non-melanoma Skin Cancer. En *Ultraviolet Light in Human Health, Diseases and Environment* (pp. 27–40). Nottingham, UK.
- Liu, Y., Chan, F., Sun, H., Yan, J., Fan, D., Zhao, D., An, J., Zhou, D. Resveratrol protects human keratinocytes HaCaT cells from UVA-induced oxidative stress damage by downregulating Keap1 expression. *European Journal of Pharmacology*, 2001; 650(1), 130–137.
- Losquadro, W. D. Anatomy of the Skin and the Pathogenesis of Nonmelanoma Skin Cancer. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*, 2017; 25(5), 283-289.
- Marks, J. G., Miller, J. J., Marks, J. G., y Miller, J. J. (2018). Structure and Function of the Skin. En *Lookingbill and Marks' Principles of Dermatology* (6°, pp. 2–10). Elsevier.

- Maverakis, E., Miyamura, Y., Bowen, M. P., Correa, G., Ono, Y., y Goodarzi, H. Light, including ultraviolet. *Journal of Autoimmunity*, 2010; 34(3), 1–11.
- Menaa, F. y Menaa, A. (2013). Skin Photoprotection by Polyphenols in Animal Models and Humans. En *Polyphenols in Human Health and Disease* (831-838). San Diego, California: Elsevier Inc.
- Neuman, M. G., Oruña, L., Coto, G., Lago, G., Nanau, R., y Vincent, M. Hyaluronic acid signals for repair in ethanol-induced apoptosis in skin cells in vitro. *Clinical Biochemistry*, 2010; 43(10–11), 822–826.
- Nichols, J. A., y Katiyar, S. K. Skin photoprotection by natural polyphenols: Anti-inflammatory, anti-oxidant and DNA repair mechanisms. *Archives of Dermatology*, 2010; 302(3), 1–19.
- Nishigori, C. Cellular aspects of photocarcinogenesis. *Photochemical & photobiological sciences*, 2006; 5, 208–214.
- Nolasco, E. (2018). Análisis Fitoquímico y Evaluación de la Capacidad Antimicrobiana, Antioxidante y Fotoprotectora de *Hyptis mociniana* (Benth). Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Ogura, R., y Sugiyama, M. (1993). Reactive Oxidants in Skin: UV-Induced Lipid Peroxidation. En *Oxidative Stress in Dermatology* (pp. 49–66). Nueva York: Marcel Dekker INC.
- Olivera, A., Beaven, M. A., y Metcalfe, D. D. Mast cells signal their importance in health and disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2018; 142(2), 381-393-
- Orciani, M., Gorbi, S., Benedetti, M., Di Benedetto, G., Mattioli-Belmonte, M., Regoli, F., y Di Primio, R. Oxidative stress defense in human-skin-derived mesenchymal stem cells versus human keratinocytes: Different mechanisms of protection and cell selection. *Free radical biology & medicine*, 2010; 49(5), 830–8.
- Park, S. H., Jang, S., Son, E., Lee, S. W., Park, S. D., Sung, Y. Y., y Kim, H. K. *Polygonum aviculare* L. extract reduces fatigue by inhibiting neuroinflammation in restraint-stressed mice. *Phytomedicine*, 2018; 42, 180–189.
- Pastore, S., Lulli, D., Potapovich, A. I., Fianza, P., Kostyuk, V. A., Dellambra, E., De Luca, C., Maurelli, R., Korkina, L. G. Differential modulation of stress-inflammation responses by plant polyphenols in cultured normal human keratinocytes and immortalized HaCaT cells. *Journal of Dermatological Science*, 2011; 63(2), 104–114.
- Penninckx, F., Cheng, N., Kerremans, R., Van Damme, B., De Loecker, W. The Effects of Different Concentrations of Glycerol and Dimethylsulfoxide on the Metabolic

- Activities of Kidney Slices. *Cryobiology*, 1983; 20, 51-60.
- Petruk, G., Di Lorenzo, F., Imbimbo, P., Silipo, A., Bonina, A., Rizza, L., Piccoli, R., Monti, D. M., Lanzetta, R. Protective effect of *Opuntia ficus-indica* L. cladodes against UVA-induced oxidative stress in normal human keratinocytes. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2017; 27(24), 5485–5489.
- Picking, D., Delgoda, R., Boulogne, I., y Mitchell, S. *Hyptis verticillata* Jacq : A review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology*, 2013; 147(1), 16–41.
- Piñol, M. T., Palazón, J., Cusidó, R. M. (2008). Introducción al metabolismo secundario. En Fudaamentos de fisiología vegetal. (2º, pp 323-348). Barcelona: McGraw Hill.
- Prasad, R., y Katiyar, S. K. Crosstalk Among UV-Induced Inflammatory Mediators, DNA Damage and Epigenetic Regulators Facilitates Suppression of the Immune System. *ARP Journal of Engineering and Applied Sciences*, 2017; 12(10), 3218–3221.
- Rabe, J. H., Mamelak, A. J., McElgunn, P. J. S., Morison, W. L., y Sauder, D. N. Photoaging: Mechanisms and repair. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2006; 55(1), 1–19.
- Rabinovich, L., y Kazlouskaya, V. Herbal Sun Protection Agents: Human Studies. *Clinics in Dermatology*, 2018; 36(3), 369-375.
- Raymundo, L. J. R. P., Guilhon, C. C., Alviano, D. S., Eline, M., Antonioli, A. R., Cavalcanti, S. C. H., Alves, P. B., Alviano, C. S., Fernandes, P. D. Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities of the *Hyptis pectinata* (L.) Poit essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011; 134(3), 725–732.
- Reyes, E., y Vitale, M. A. Avances en fotoprotección. Mecanismos moleculares implicados. *Piel*, 2013; 28(4), 235–247.
- Reyna-Campos, A. O. (2018). *Dyssodia tagetiflora* Lag.: Caracterización química del extracto metanólico y sus propiedades biológicas. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Robins y Cotran. Patología estructural y funcional. 9na edición. Barcelona, España: Elsevier, 2015.
- Rojas, A., Bah, M., Rojas, J. I., Serrano, V., Pacheco, S. Spasmolytic activity of some plants used by the Otomi Indians of Querétaro (México) for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phytomedicine*, 1999, 6(5), 367-371.
- Rojas Chavez, S., Vibrans, H., y Tenorio Ledezma, P. (2011). Malezas de México. CONABIO. Recuperado a partir de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/dyssodia->

- Roy, S. (2017). Impact of UV Radiation on Genome Stability and Human Health. En: Ultraviolet Light in Human Health, Diseases and Environment (Vol. 996, 207-219). Nottingham, UK: Springer International Publishing.
- Saewan, N., y Jimtaisong, A. Natural Products as photoprotection. *Journal of Natural Products*, 2012; 75(3), 311–335.
- Salazar Monsalve, L., Rodríguez Lara, V., González Villalva, A. E., Fortoul van der Goes, T. I., Rodríguez Lara, V. Falcón Rodríguez, C. I., Estrada Villaseñor, E. G., López Valdéz, N., Colín Barenque, L., Carrillo Mora, P., Gutiérrez Soriano, J. R. (2010) Tejidos. En *Histología y Biología Celular* (pp.73-145) Ciudad de México: McGraw Hill.
- Sánchez-Blanco, J., y Guevara-Féfer, F. Plantas arvenses asociadas a cultivos de maíz de temporal en suelos salinos de la ribiera del lago de Cuitzeo, Michoacán, México. *Acta Botánica Mexicana*, 2013; 105, 107-129.
- Sarkany, R. Ultraviolet radiation and the skin. *Seminars in dermatology*, 2011; 9(1), 1–90.
- Sarkany, R. Sun protection strategies. *Medicine*, 2017; 45(7), 444–447.
- Schuch, A. P., Moreno, N. C., Schuch, N. J., Menck, C. F. M., y Garcia, C. C. M. Sunlight damage to cellular DNA: Focus on oxidatively generated lesions. *Free Radical Biology and Medicine*, 2017; 107, 110–124.
- Schweintzger, N. A., Bambach, I., Reginato, E., Mayer, G., Limón-Flores, A. Y., Ullrich, S. E., Byrne, S. N., Wolf, P. Mast cells are required for phototolerance induction and scratching abatement. *Experimental Dermatology*, 2015; 24(7), 491–496.
- Sepúlveda Saavedra, J. (2012) Tejido conectivo. En *Texto atlas de histología. Biología celular y tisular* (pp 83-98). Ciudad de México: McGraw Hill.
- Sharma, A., Kashyap, D., Sak, K., Tuli, H. S., y Sharma, A. K. Therapeutic charm of quercetin and its derivatives: a review of research and patents. *Pharmaceutical patent analyst*, 2018; 7(1), 15–32.
- Shea, C. R., y He, Y. Y. Skin, Effects of Ultraviolet Radiation. *Reference Module in Biomedical Sciences*, 2014; 1–5.
- Shemluck, M. Medicinal and other uses of the Compositae by Indians in the United States and Canada. *Journal of Ethnopharmacology*, 1982; 5(3), 303–358.
- Sheth, K., Jolad, S., Wiedhopf, R., y Cole, J. R. Tumor-Inhibitory Agent from *Hyptis emoryi* (Labiatae). *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1972; 61(11), 1972.
- Stevens, A., Lowe, J., Young, B. (2003). Piel. En *Weather. Histopatología básica. Atlas*

- y texto en color. (4°, pp. 242-257). Madrid, España: Elsevier.
- Su-Jin, K., Jae-Young, U., Seung-Heon, H., y Ju-Young, L. Anti-Inflammatory Activity of Hyperoside Through the Suppression of Nuclear Factor- $\kappa$ B Activation in Mouse Peritoneal Macrophages. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2011; 39(01), 171–181.
- Takeda, H., Tsuji, M., Matsumiya, T., Kubo, M., Identification of rosmarinic acid as a novel antidepressive substance in the leaves of *Perilla frutescens* Britton var. *Acuta* Kudo (Perillae Herba). *Nihon Shinkei Seishin Yskurigaku Zasshi*, 2002; 22(1), 15-22.
- Tortora, G. J., y Derrickson, B. H. (2014). The Integumentary System. En *Introduction to the human body* (5°, pp. 153–180). Ciudad de México: Editorial Médica Panamericana.
- Tortoriello, J., Meches-Fischer, M., Villarreal, M. L., Berlin, B., Berlin, E. Spasmolytic Activity of Medicinal Plants Used to Treat Gastrointestinal and Respiratory Diseases in the Higland of Chiapas. *Phytomedicine*, 1995; 2(1), 57-66.
- Trujillo, O., Vanezis, P., y Cermignani, M. Photometric assessment of skin colour and lightness using a tristimulus calorimeter: reliability of inter and intra-investigator observations in healthy adult volunteers. *Forensic Science International*; 1996, 81, 1-10.
- Villarreal-Quintanilla, J. Á., Villaseñor-Rios, J. L., y Medina-Lemos, R. (2008). *Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán*. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Villegas-Álvarez, E. D. de, Menéndez, M. D. C., Martínez, M. S., Alonso, M. C., y Viera, N. R. Radiación Ultravioleta. Fotoenvejecimiento cutáneo. *Revista Electrónica de las Ciencias Médicas en Cienfuegos*, 2009; 7(1), 194–203.
- Vo, V. A., Lee, J. W., Chang, J. E., Kim, J. Y., Kim, N. H., Lee, H. J., Kim, S. S., Chun, W., Kwon, Y. S. Avicularin Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Response by Suppressing ERK Phosphorylation in RAW 264.7 Macrophages. *Biomolecules & Therapeutics*, 2012; 20(6), 532-537.
- Walker, S. L., Hawk, J. L. M., y Young, A. R. (2005). Efectos agudos y crónicos de la radiación ultravioleta sobre la piel. En *Fitzpatrick. Dermatología en Medicina General. Tomo II* (6a ed.). Editorial Médica Panamericana
- Walle, T., Ta, N., Kawamori, T., Wen, X., Tsuji, P. A., Walle, K. Cancer chemopreventive properties of orally bioavailable flavonoids-Methylated versus unmethylated flavones. *Biochemical Pharmacology*, 2007; 73(9), 1288-1296.
- Wang, T. yang, Li, Q., y Bi, K. shun. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure,

- activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018; 13(1), 12-23.
- Wang, W., Sun, C., Mao, L., Ma, P., Liu, F., Yang, L., Gao, Y. The biological activities, chemical stability, metabolism and delivery systems of quercetin: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 2016; 56, 21-38.
- Watanabe, E., Sudo, R., Takahashi, M., Hayashi, M. Evaluation of absorbability of Poorly Water-Soluble Drugs: Validity of the Use of Additives. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2000; 23(7), 838-843.
- Welsch, U. y Sobotta, J. Histología. 2ª edición. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana, 2009
- Wharton, J. R., y Cockerell, C. J. The sun: A friend and enemy. *Clinics in Dermatology*, 1998, 16(4), 415–419.
- Williams, R. J., Spencer, J. P. E., Rice-Evans, C. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules?. *Free Radical Biology and Medicine*, 2004; 36(7), 838-849.
- Witt, E. H., Motchnik, P., y Packer, L. (1993). Evidence for UV Light as an Oxidative Stressor in Skin. En J. Fuchs y L. Packer (Eds.), *Oxidative Stress in Dermatology* (pp. 29–47). New York: Marcel Dekker INC.
- Yang, B., Yang, Q., Yang, X., Yan, H. B., Lu, Q. P. Hyperoside protects human primary melanocytes against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage. *Molecular Medicine Reports*, 2016; 13, 4613–4619.
- Yi, Y. S. Regulatory Roles of Flavonoids on Inflammasome Activation during Inflammatory Responses. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2018; 62, e1800147.
- Young, A. R., Claveau, J., y Rossi, A. B. Ultraviolet radiation and the skin: Photobiology and sunscreen photoprotection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2017; 76(3), 100-109.
- Zheng, W., Wang, S. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49, 5165-5170.