



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION**



**CIUDAD DE MEXICO**

**SECRETARIA DE SALUD DEL DISTRITO FEDERAL**  
**DIRECCION DE EDUCACION E INVESTIGACION**  
**SUBDIRECCION DE ENSEÑANZA**  
**UNIDAD DEPARTAMENTAL DE ENSEÑANZA DE POSGRADO**  
**CENTRO DERMATOLOGICO "DR. LADISLAO DE LA PASCUA"**

**CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACION EN**  
**DERMATOLOGIA**

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO**  
**SOBRE EL DAÑO AGUDO POR UVA**  
**EN PACIENTES DE FOTOTERAPIA**

**TRABAJO DE INVESTIGACION**  
**ENSAYO CLINICO CONTROLADO**

**PRESENTADO POR: DRA. NORMA CORTÉS LOZANO**  
**PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN DERMATOLOGIA**



**DIRECTORA: DRA. OBDULIA RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ**

**DIRECTOR DE TESIS: DRA. ANTONIETA DOMÍNGUEZ GÓMEZ**  
**DR. en C.B. ANDRÉS E. CASTELL RODRÍGUEZ**

**MEXICO**

**2006**



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.

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO  
SOBRE EL DAÑO AGUDO POR UVA  
EN PACIENTES DE FOTOTERAPIA**

**Dra. Norma Cortés Lozano**

**Vo. Bo.**

**Dra. Obdulia Rodríguez Rodríguez  
Profesora Titular del Curso de Especialización  
en Dermatología**

**Vo. Bo.**

**Dr. Roberto Sánchez Ramírez  
Director de Enseñanza e Investigación**

**Vo. Bo.**

**Dr. Fermín Jurado Santa Cruz**  
**Jefe de Enseñanza y Profesor adjunto**  
**Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”**

**Vo. Bo.**

**Dr. Virgilio Santamaría González**  
**Jefe de Investigación**  
**Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”**

**Vo. Bo.**

**Dra. Antonieta Domínguez Gómez**  
**Jefa del Servicio de Fototerapia**  
**Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”**

**Vo. Bo.**

**Dr. en C.B. Andrés E. Castell Rodríguez**  
**Jefe del Laboratorio de Inmunoterapia Experimental**  
**Depto. de Biología Celular y Tisular,**  
**Fac. Medicina, UNAM.**

## **Agradecimientos:**

### **A mi familia**

Porque sin ustedes no hubiera logrado gran parte de este sueño.

### **A mis amigos Lylian, Jesse y Martín**

Que estuvieron a mi lado todos estos años apoyándome, sobre todo en los momentos difíciles en que más los necesitaba y sin quienes este proyecto nunca se hubiera llevado a cabo.

### **A mis amigos Paty y Beto**

Por estar conmigo y tolerar mi carácter aún en los peores momentos.

### **Al Dr. Andrés Castell**

Por creer en mí y brindarme el apoyo académico y financiero sin el cual este proyecto no hubiera sido posible; pero sobre todo por su amistad y su ejemplo que me ha permitido seguir adelante por el camino de la Investigación.

### **A la Dra. Antonieta Domínguez**

Gracias por su apoyo incondicional, por su amistad y sus conocimientos que hicieron posible realizar este proyecto.

### **A la Biol. Beatriz Hernández**

Gracias Bety por ayudarme con mucho más que las tinciones. ¡No se que hubiera hecho sin ti!

### **A la Enf. Elvira Cruz**

Elvirita, gracias por tu paciencia y tu gran ayuda durante la realización de las biopsias.

### **A mis maestros**

Porque sin sus enseñanzas nada de esto se hubiera siquiera pensado. Gracias por todos los buenos ratos que pasamos y por su esfuerzo durante estos tres años.

### **A los pacientes**

Por su confianza, por su paciencia y su colaboración a la enseñanza y a la realización de este estudio, no los olvidaré, gracias.

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN .....	3
RADIACIÓN ULTRAVIOLETA Y FOTOTERAPIA .....	3
Historia .....	3
Radiación Ultravioleta y Fototerapia.....	3
Dosis Eritematógena Mínima .....	5
Tipos de Fototerapia .....	6
Criterios para la Aplicación de Fototerapia.....	9
EFECTOS DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA EN LA PIEL .....	12
Procesos ópticos de la RUV.....	12
Cromóforos.....	13
Estados Energéticos de la Materia.....	14
Reacciones Lumínicas .....	15
Efectos Agudos de la Radiación Solar en la Piel .....	16
Efectos Tardíos de la Radiación Solar en la Piel.....	17
Efectos Crónicos de la Radiación Solar en la Piel.....	19
Cambios Histológicos Producidos por la Radiación UV .....	21
Producción de Radicales Libres de Oxígeno.....	24
SISTEMAS DE DEFENSA DE LA PIEL .....	25
Barreras físicas .....	25
Sistemas enzimáticos.....	26
Sistemas no enzimáticos.....	27
ÁCIDO ASCÓRBICO COMO ANTIOXIDANTE.....	27
Farmacodinamia.....	28
Farmacocinética .....	30
Precauciones y contraindicaciones .....	31
Dosis y vías de administración .....	32
PROTOCOLO DE ESTUDIO .....	33
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	33
JUSTIFICACIÓN .....	34
HIPÓTESIS .....	34
OBJETIVOS .....	35
SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS.....	36

TAMAÑO DE LA MUESTRA .....	38
DEFINICIÓN DE VARIABLES .....	39
ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	50
DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO.....	51
FACTIBILIDAD Y ASPECTOS ÉTICOS .....	55
RECURSOS .....	55
DIFUSIÓN DE RESULTADOS .....	56
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES .....	57
RESULTADOS .....	58
COMENTARIOS .....	73
ANEXO 1.....	79
ANEXO 2.....	80
ANEXO 3 .....	81
BIBLIOGRAFÍA .....	82



## **RADIACIÓN ULTRAVIOLETA Y FOTOTERAPIA**

### **Historia**

La fototerapia es la exposición a radiaciones no ionizantes con fines terapéuticos y es una modalidad de tratamiento que se utiliza para diversas enfermedades crónicas de la piel, ya sea con la aplicación de rayos ultravioleta (UV) únicamente o asociados a fármacos fotosensibilizantes<sup>1,2</sup>.

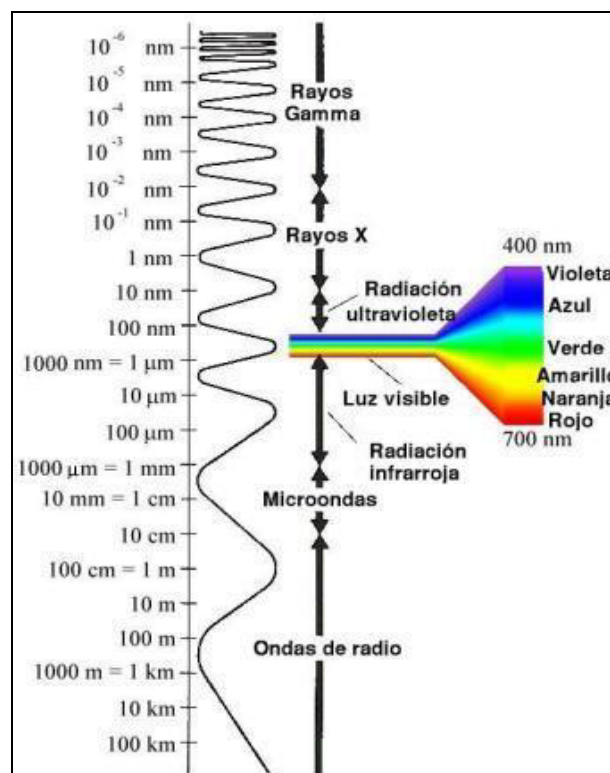
Aunque la helioterapia ha sido practicada desde tiempos muy remotos por griegos, egipcios, romanos e hindúes (el primer reporte terapéutico data de 1400 años antes de Cristo en la India)<sup>3</sup>, la fototerapia científica se inicia con Niels Finsen en 1903 con la aplicación de UV en el tratamiento de lupus vulgar, lo cual marcó el inicio del desarrollo y la investigación en Fotomedicina (aplicación de radiaciones no ionizantes en Medicina). En 1957, se inicia la era de PUVA o fotoquimioterapia que asocia los psoralenos con las radiaciones UVA y la fototerapia con UVB<sup>1,4,5</sup>.

### **Radiación Ultravioleta y Fototerapia**

La radiación solar que llega al planeta tiene una amplia gama de longitudes de onda y en su conjunto se conoce como espectro electromagnético (**Fig. 1**). La radiación lumínica se encuentra entre los 400 y 700nm. Dentro de las radiaciones no visibles, la radiación ultravioleta es la de mayor interés en fotodermatología y se caracteriza por tener tres bandas: el segmento A (UVA), que va de los 320 a 400nm que constituye el 98% de los rayos UV, y tiene la capacidad de atravesar el

---

vidrio y penetrar hasta la dermis; el segmento B (UVB), que se encuentra en el rango entre los 290 y 320nm, que representa el 2% de los rayos UV, son detenidos por el vidrio y penetran hasta la epidermis; y el segmento C (UVC), con longitudes de onda por debajo de 290nm, que son absorbidos por la capa de ozono y utilizados artificialmente para la esterilización<sup>6,7</sup>.



**Fig. 1.** Espectro electromagnético

Las radiaciones UV que se utilizan en fototerapia se encuentran entre los 290 y los 400nm y se subdividen en 2 tipos de rayos: UVA y UVB<sup>1,8</sup>.

---

La medición de la exposición a la radiación ultravioleta (RUV), llamada dosimetría, puede realizarse por métodos físicos mediante el uso de dispositivos o radiómetros que miden la intensidad de la RUV en cuestión. Esto es llamado irradiancia y es expresado en  $\text{watts/cm}^2$ . Según el Sistema Internacional, la unidad de energía que incide sobre un área a usar en fotobiología es el Joule, siendo la Unidad de área el centímetro cuadrado ( $\text{J/cm}^2$ ). La dosis de exposición que se expresa en  $\text{Joules/cm}^2$  es calculado multiplicando la irradiancia por el tiempo en segundos<sup>6</sup>.

### **Dosis Eritematógena Mínima**

Debido a que el eritema es un aspecto fácilmente observable de la respuesta inflamatoria posterior a la irradiación con UV, la dosimetría biológica hace uso de la unidad Dosis Eritematosa Mínima (DEM) para indicar la dosis mínima de UV que produce eritema perceptible con cuatro bordes definidos en el tiempo de máximo eritema para cada longitud de onda estudiada; y la dosis fototóxica mínima (DFM) como la dosis mínima de UVA capaz de producir eritema perceptible con cuatro bordes definidos 48 horas después de la exposición a UVA en un sujeto que ha ingerido un psoraleno ( $0.6\text{mg/kg}$ ) 2 horas antes de la exposición. El tiempo de máximo eritema para la radiación UVB es de 12 a 20 horas, para UVC de 5 a 9 horas y para PUVA de 48 a 72 horas. La DEM determinada para UVB y UVA de acuerdo al fototipo se indica en la **Tabla 1**<sup>6,9</sup>.

---

Fototipo	DEM	
	UVB mJ/cm <sup>2</sup>	UVA J/cm <sup>2</sup>
0	0<15	<20
I	15-30	20-35
II	25-35	30-45
III	30-50	40-55
IV	45-60	50-80
V	60-100	70-100
VI	-	-

Tabla 1. Dosis eritematogena mínima para radiación UVA y UVB de acuerdo al fototipo.<sup>6,9</sup>

## Tipos de Fototerapia

Existen 2 tipos de fototerapia:

- **Fototerapia simple:** que utiliza únicamente las radiaciones solares (helioterapia) o la aplicación de las radiaciones UVA y UVB originadas en distintas fuentes emisoras artificiales<sup>1,4</sup>.
- **Fotoquimioterapia:** que utiliza la asociación de rayos UV y medicamentos fotosensibilizantes administrados por vía oral o tópica y comprende las siguientes modalidades<sup>1,2,5</sup>:
  - **PUVA:** Administración de un agente fotosensibilizante o psoraleno (P) y la irradiación posterior con rayos UV de onda A (UVA).

Los efectos biológicos de los psoralenos se pueden explicar por su fotoactividad sobre el ácido desoxirribonucleico de las células epidérmicas (los queratinocitos) y las células dérmicas (fibroblastos y células endoteliales).

La dosis de los psoralenos más utilizados es:

---

- Oral: 8-Metoxipsoraleno (8-MOP) 0.6 mg/kg/día ingerido 2 horas antes de la exposición a rayos UV.
- Tópica: Metoxsalen y otros psoralenos diluidos de 0.3 a 1% en aplicación local.

La dosificación de los rayos UV varía de 1 a 5 J/cm<sup>2</sup>/día dependiendo del fototipo de piel, del tipo de afección, del grosor de la piel, extensión y antigüedad de las lesiones y de si el paciente recibió UV anteriormente. El inicio del tratamiento se debe efectuar siempre con la dosis fototóxica mínima (DFM) obtenida mediante fotopueba.

Las indicaciones de PUVA son las siguientes:

- Psoriasis
  - Vitiligo localizado o generalizado
  - Casos severos de eccema y dermatitis atópica
  - Erupción polimorfa lumínica y otras fotodermatosis
  - Hiperbilirrubinemia neonatal
  - Urticaria pigmentosa
  - Esclerodermia localizada
  - Lupus eritematoso sistémico
  - Hiperqueratosis y pustulosis palmo plantar
  - Alopecia areata
  - Liquen plano
  - Micosis fungoide y otras erupciones linfomatosas
-

Las contraindicaciones de PUVA son: Embarazo, lactancia, niños menores de 12 años, enfermedades hepáticas y renales, dermatosis fotosensibles e historia de enfermedades malignas de la piel<sup>1,2,10</sup>.

- **RePUVA:** Combina la administración de retinoides y PUVA. El retinoide se administra por vía oral y el más utilizado en la actualidad es Acitretina, un derivado de Etreinato, a dosis de 25 a 50 mg/día. Las indicaciones de RePUVA son: formas severas de psoriasis, ictiosis congénita, pitiriasis rubra pilaris, enfermedad de Darier, liquen plano e hiperqueratosis palmo-plantar<sup>1,11</sup>.
  - **PUVA asociada a mostaza nitrogenada tópica:** Indicada en el tratamiento de micosis fungoide en etapas I y II. Se realiza la aplicación de mostaza nitrogenada tópica (10mg de mecloretamina diluida en 40 a 60mL de agua), la ingestión de 8-MOP a 0.6mg/kg/día 2 horas antes de la irradiación con UVA entre 1 y 5 J/cm<sup>2</sup>/día con una frecuencia de 2 a 3 veces por semana<sup>1,12</sup>.
  - **PUVA asociada a Metotrexate:** Indicada en el tratamiento de la psoriasis cuando los resultados de PUVA y RePUVA no son satisfactorios o como tratamiento de rotación. La dosis de metotrexate varía de 15 a 25mg/semana en 2 a 3 tomas<sup>1</sup>.
  - **PUVA-B:** La asociación de PUVA y UVB es muy utilizada en el tratamiento de la psoriasis con el fin de disminuir las altas dosis de UVA<sup>1,13</sup>.
-

## **Criterios para la Aplicación de Fototerapia**

Para la aplicación de fototerapia se debe tomar en cuenta lo siguiente<sup>2</sup>:

- **Evaluación de la enfermedad:**
    - **Severidad de la enfermedad:** Algunas enfermedades cuando no son muy severas pueden tratarse con otras modalidades terapéuticas.
    - **Sitio a tratar:** Los sitios afectados de piel normalmente cubierta responden mejor al tratamiento que los de piel descubierta.
    - **Tipo de enfermedad:** El tipo de tratamiento varía con respecto a cada enfermedad, a su estadio y al grado de afección, así como al estado de salud general del paciente.
    - **Terapias alternativas:** Se debe tomar en cuenta el riesgo/beneficio del tratamiento con fototerapia.
    - **Respuesta anterior al tratamiento:** La falta de respuesta previa a fototerapia debe ser un indicador de prueba para fotoquimioterapia.
  - **Evaluación del paciente:**
    - **Interrogatorio:**
      - **Estado de salud en general:** El paciente debe ser capaz de permanecer de pie dentro de la cabina durante el tratamiento.
      - **Edad:** La fotoquimioterapia se debe usar con precaución en niños.
      - **Sexo:** La fotoquimioterapia está contraindicada en mujeres embarazadas o lactando.
-

- **Adherencia al tratamiento:** Sólo se debe usar en pacientes capaces de entender y ajustarse a las instrucciones.
  - **Medicamentos:** Se debe consignar el uso de otros medicamentos fotosensibilizantes.
  - **Historia de fotosensibilidad y enfermedad de tejido conectivo:** La fototerapia puede exacerbar enfermedades fotosensibles o del tejido conectivo, aún cuando esta indicada en el tratamiento de algunas de ellas.
  - **Fototipo de piel:** Para valorar el riesgo de eventos adversos.
  - **Historia de cáncer de piel.**
  - **Historia de exposición previa a radiaciones ionizantes.**
  - **Examen físico:**
    - **Exploración física completa.**
    - **Examen de la piel:** Para consignar extensión de la dermatosis a tratar, dermatosis premalignas o malignas, nevos, fotoenvejecimiento y otras dermatosis.
    - **Examen oftalmológico:** Debe realizarse previo al inicio del tratamiento y cada año.
  - **Exámenes de laboratorio:**
    - **Biopsia:** En caso necesario para establecer el diagnóstico.
    - **Pruebas de función renal y hepática:** Previo al inicio de fotoquimioterapia, por los efectos metabólicos sobre el psoraleno que la alteración hepática o renal pudieran tener.
-



Se deben tener en cuenta ciertas precauciones durante la aplicación del tratamiento, estas incluyen: uso de goggles con protección UV para evitar lesiones oculares, uso de pantallas o ropa adecuada y parches especiales para genitales, areolas y pezones a menos que se encuentren afectados por la dermatosis a tratar, uso de lentes con protección UV hasta 24 horas después del tratamiento con psoralenos, evitar la exposición no necesaria a radiación solar y el uso de filtros o pantallas solares todos los días<sup>2</sup>.

Las contraindicaciones absolutas de la fototerapia incluyen: Xeroderma pigmentoso, albinismo y otras enfermedades con sensibilidad importante a la luz. Está contraindicada en forma relativa en lupus eritematoso, embarazo y lactancia (se puede usar fototerapia). La fototerapia se debe usar con precaución en pacientes con historia personal o familiar de melanoma, cáncer de piel no melanoma, daño solar extenso, tratamiento previo con radiaciones ionizantes o arsénico, pénfigo o penfigoide, inmunosupresión, uremia e insuficiencia hepática, enfermedad miocárdica severa (que dificulte el estar de pie), cataratas o afaquia (se puede usar protección ocular adecuada en estos pacientes) y fotosensibilidad<sup>2</sup>.

---

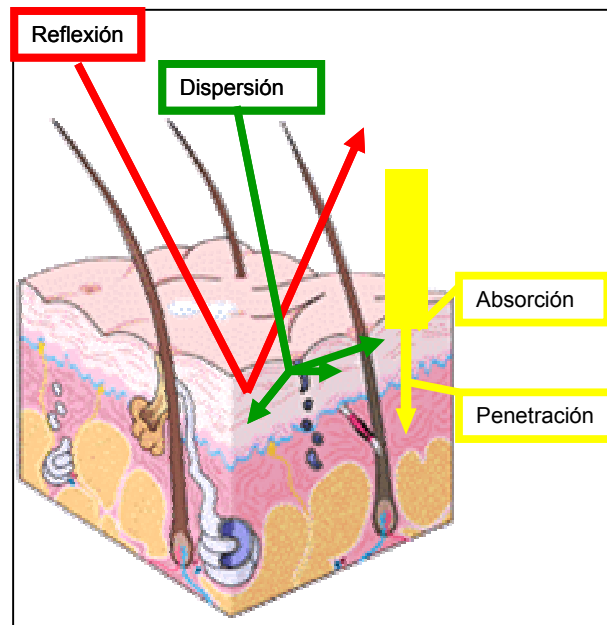
## **EFFECTOS DE LA RADIACION ULTRAVIOLETA EN LA PIEL**

Los efectos generales de la radiación no ionizante sobre el cuerpo son complejos, como por ejemplo, la síntesis de vitamina D, cambios en los constituyentes químicos y celulares de la sangre, acción sobre la psique y el ritmo circadiano<sup>6</sup>.

### **Procesos Ópticos de la Radiación Ultravioleta**

La piel y los ojos son los órganos que están expuestos en forma natural a las radiaciones. Estas, al llegar a la piel, pueden sufrir 4 procesos ópticos (**Fig. 2.**): **Reflexión** directa mediada por la capa córnea, importante para la luz visible y la radiación infrarroja (RIR); **dispersión** en los diferentes tejidos y células de la piel principalmente a nivel del estrato córneo por la melanina, efectiva sobre todo en la fracción UVB; **transmisión** directa, por penetración en la piel, llegando 20% de la UVB a la capa espinosa y 10% a la dermis, la mayoría de la luz y UVA atraviesa la epidermis siendo en parte detenidas por la melanina, sin embargo, la luz roja y la RIR llegan hasta la hipodermis; y **absorción**, la capa córnea absorbe el 70% de UVB debido a los aminoácidos polares de la queratina y al ácido urocánico, de la melanina y los carotenoides que absorben la RUV y la luz visible, y la hemoglobina que absorbe la luz visible. Sólo la radiación absorbida es capaz de iniciar cambios fotoquímicos que culminen en respuestas fotobiológicas<sup>6,7</sup>.

---



**Fig. 2.** Procesos ópticos de la radiación solar sobre la piel.

## **Cromóforos**

Las moléculas capaces de absorber radiaciones se denominan cromóforos. Cada cromóforo característicamente absorbe sólo un rango específico de longitudes de onda. Una vez que la energía de los fotones es absorbida, el cromóforo pasa de su estado de reposo a un estado de excitación que lleva rápidamente a la liberación de energía en forma de calor o luz, o bien, reacciona con otras moléculas para formar fotoproductos. Estos fotoproductos, a su vez, pueden producir cambios bioquímicos y celulares que culminan en una respuesta química fotobiológica, la cual puede producir daño fotoquímico directo u oxidativo indirecto a biomoléculas como el ADN o las proteínas. La piel contiene numerosos cromóforos que absorben energía dentro del rango UV, principalmente UVB, éstas

---

incluyen ácidos nucleicos, ácido urocánico, aminoácidos aromáticos, esteroides, liposomas, porfirinas y precursores de melanina. La melanina es el recurso fundamental de protección contra el daño producido. Al absorber un fotón pasa a un estado excitado que en su mayor parte pierde en forma de calor, además actúa atrapando y desactivando especies reactivas de oxígeno. Conociendo el espectro de absorción de algunas especies moleculares se puede predecir si la radiación de una cierta longitud de onda puede producir un efecto fotoquímico en dichas especies moleculares<sup>6,7,14</sup>.

## **Estados Energéticos de la Materia**

Los estados de energía de la materia se refieren a los estados electrónicos de sus componentes (moléculas y átomos). Cuando las moléculas se encuentran en el menor estado de energía electrónica y reactividad química se conoce como estado electrónico básico o fundamental, llamándose a los estados de mayor energía causados por la absorción de un fotón estado electrónico excitado. Esta promoción de la molécula a estados de mayor energía se conoce como transición, y la desactivación de los estados electrónicos excitados que vuelven a los estados de menor energía se conoce como relajación. Los estados de excitación son llamados Singlete y Triplete. Solo algunos tipos de moléculas químicas son capaces de pasar a un estado Triplete y estas son las que fluorescen. La relajación puede hacerse por un proceso de radiante con emisión de un fotón o a través de emisión de calor, fluorescencia, fosforescencia, conversión intersistemas

---

(del estado Molecular al Triplete) o por reacción química con las moléculas vecinas (reacción fotoquímica secundaria). La reacción fotoquímica primaria está dada por la absorción del fotón por el cromóforo<sup>6</sup>.

## **Reacciones Lumínicas**

Las leyes que rigen la interacción de la reacción lumínica y la materia son:

- Ley de absorción fotoquímica o de Grotthus-Draper (Primera Ley): Solo las radiaciones que son absorbidas son efectivas para promover los cambios fotoquímicos.
- Ley de absorción de Lambert-Beer: La fracción de luz incidente absorbida por una sustancia en solución es independiente de la intensidad de la luz inicial y aumenta proporcionalmente con el incremento en la concentración de la sustancia.
- Ley de equivalencia fotoquímica o de Starck-Einstein: Cuando un quantum de energía es absorbido por una molécula de una sustancia absorbente se produce una activación de la molécula (reacción primaria).

Hay dos tipos básicos de reacciones fotoquímicas: directas y por fotosensibilización. Las directas son aquellas en las que el cromóforo es afectado y sufre una modificación química para formar productos o también puede reaccionar con una molécula diferente como es el caso del ciclo de adición de los psoralenos bifuncionales como la timina del ADN. Las reacciones de

---

fotosensibilización en las que el cromóforo sólo juega un papel de captador y transportador de energía más él no está afectado directamente por la reacción fotoquímica.

Existen dos tipos de reacción de fotosensibilización:

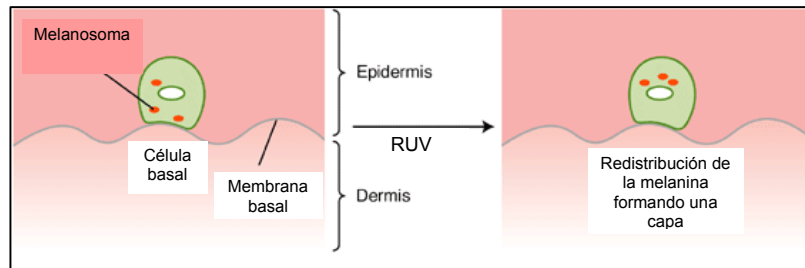
- **Transferencia de energía:** La energía del fotosensibilizador es transferida a un aceptador que pasa al estado de excitación. Un ejemplo es la reacción fotodinámica de tipo II.
- **Transferencia de carga o de un átomo de hidrógeno:** El fotosensibilizador excitado presenta propiedades de oxidorreducción y transfiere carga a un sustrato. Un ejemplo es la reacción fotodinámica tipo I <sup>6</sup>.

## **Efectos agudos de la radiación solar en la piel**

Los efectos agudos de la radiación ultravioleta sobre la piel son los siguientes:

- **Acción calórica** debido a la fracción RIR que provoca vasodilatación cutánea responsable del eritema con elevación de la temperatura cutánea, por reflejo, la secreción sudorípara asegura la regulación térmica <sup>6</sup>.
  - **Pigmentación inmediata** directa, primaria o fenómeno de Meirowski producido por UVA, aparece en pocos minutos después de la exposición y dura pocas horas, es producida por fotooxidación del precursor incoloro de la melanina que se encuentra en las capas más superficiales de la
-

epidermis<sup>6</sup> y la redistribución de los melanosomas dentro de las células (Fig. 3.).



**Fig. 3.** Mecanismo de la pigmentación inmediata. (Modificado de Expert Reviews in Molecular Medicine, 2002. Cambridge University Press)

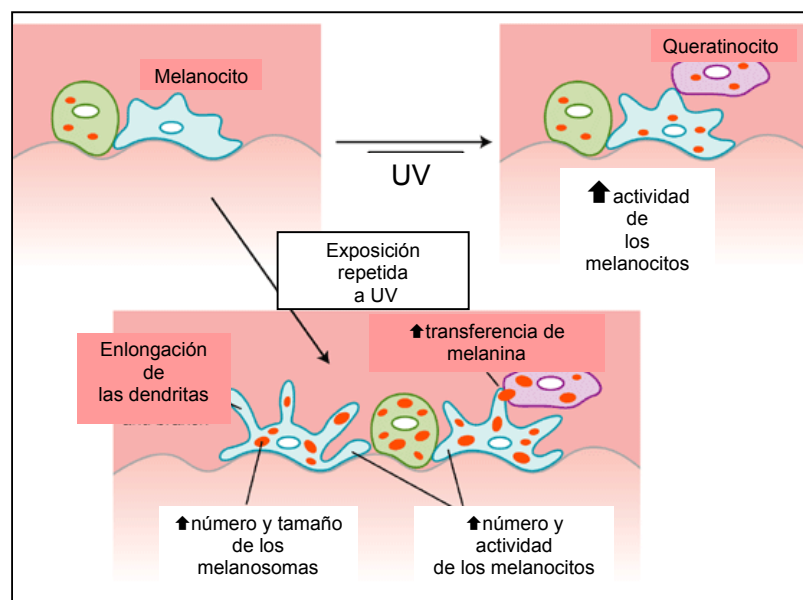
- **Acción antirraquítica** de los UVB que inducen la transformación en la epidermis de 7-dihidrocalciferol en colecalciferol<sup>6</sup>.

## **Efectos tardíos de la radiación solar en la piel**

Los efectos retardados de la radiación UV son:

- **Eritema actínico** producido por acción directa de la UVA sobre los cromóforos dérmicos (lisosomas) y endoteliales (membranas de las células endoteliales) con liberación de prostaglandinas; y sobre las membranas de los mastocitos perivasculares con liberación de serotonina e histamina. Además, existe una acción indirecta por liberación de mediadores epidérmicos que difunden hacia la dermis. El eritema es una de las principales manifestaciones de la exposición a UV, en especial a UVB<sup>6,7,15,16</sup>.

- **Pigmentación retardada o tardía** que inicia 48 a 72 horas después de la exposición y alcanza su máximo a las 3 semanas. La eumelanina de las pieles oscuras y la feomelanina de las pieles claras, tienen la capacidad para filtrar la radiación UVB que posee efectos carcinogénicos. La fotoprotección depende de la cantidad de eumelanina. El aumento en la generación de nueva melanina aumenta la DEM 2 a 5 veces, sin embargo, ésta es un pobre protector para UVA y luz visible<sup>6,7</sup>. **Fig. 4.**



**Fig. 4.** Mecanismos de pigmentación tardía. (Modificado de Expert Reviews in Molecular Medicine, 2002. Cambridge University Press)

- **Hiperplasia de la epidermis** por interacción de los fotones con el ADN epidérmico, después de la inhibición inicial, sigue un aumento en las mitosis de los queratinocitos a partir de las 48 horas, conduciendo al engrosamiento de la capa cornea (hiperqueratosis) y de la capa espinosa



(acantosis) como una reacción de fotoprotección que aumenta 2 a 4 veces la DEM. Esta proliferación puede demostrarse por inmunohistoquímica para PCNA. El antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) es una proteína de 36kDa también conocida como ciclina. Se sintetiza tempranamente en la fase G1 y S del ciclo celular ya que esta fuertemente asociada con las regiones nucleares en las que esta ocurriendo la síntesis<sup>6,7</sup>.

## **Efectos crónicos de la radiación solar en la piel**

Los efectos crónicos de la radiación UV sobre la piel son los siguientes:

- **Envejecimiento cutáneo precoz o fotoenvejecimiento** en zonas expuestas. Principalmente producido por UVB y en menor medida por UVA. La RIR parece potenciar el efecto de la UV, al menos en la elastosis. Histológicamente el sello del fotoenvejecimiento esta dado por la elastosis debido a un proceso degenerativo de la fibra elástica propio del daño por UV<sup>6,7</sup>.
  - **Fotocarcinogénesis.** La fotocarcinogénesis esta relacionada con un efecto acumulativo dosis dependiente de radiación UV y el tipo de piel. La relación del cáncer no melanoma esta claramente establecida con argumentos clínicos y epidemiológicos como son la localización en áreas cutáneas más expuestas a la luz, mayor presentación en los que trabajan al aire libre y en sujetos con sensibilidad especial (xeroderma pigmentoso, albinismo), la frecuencia se duplica cuando se desplaza al ecuador y se multiplica por 10
-

en las personas de fototipo I o II que viven en Australia. La relación es dosis dependiente. Las exposiciones precoces jugarían un papel agravante. La radiación UVB tiene acción casi directa sobre la carcinogénesis, la UVA tiene un papel inductor y la luz visible y la RIR tienen un efecto promotor. En el caso del melanoma maligno el papel del sol no está bien determinado. Por otra parte, la UVB aplicada en forma repetida en ratones inhiben el rechazo a tumores fotoinducidos que les han sido transplantados<sup>6,7,17</sup>.

- **Inhibición de la hipersensibilidad por contacto.** La dosis simple de UVB aplicada a ratones inhibe el desarrollo de hipersensibilidad por contacto a una sustancia química simple. A dosis mayores puede suprimir en forma sistémica la hipersensibilidad por contacto. Ya que las reacciones de hipersensibilidad retardada se producen por la generación de linfocitos T cooperadores antígeno-específicos, es posible que la radiación altere la función de los macrófagos involucrados en el procesamiento y presentación de antígenos, especialmente en las células de Langerhans integrantes de la epidermis y que constituye el 4% de la población celular. Hay indicios de que la UVC mata a las células de Langerhans, que las UVB son supresoras y que las UVA inhiben el número y la migración de las mismas, además de que provoca tolerancia de los linfocitos T helper (CD 4<sup>+</sup>), inhibe la producción de interferón y disminuye la producción de moléculas de adhesión intercelular (ICAM-1) por los queratinocitos<sup>6,7,14,18,19</sup>.
-

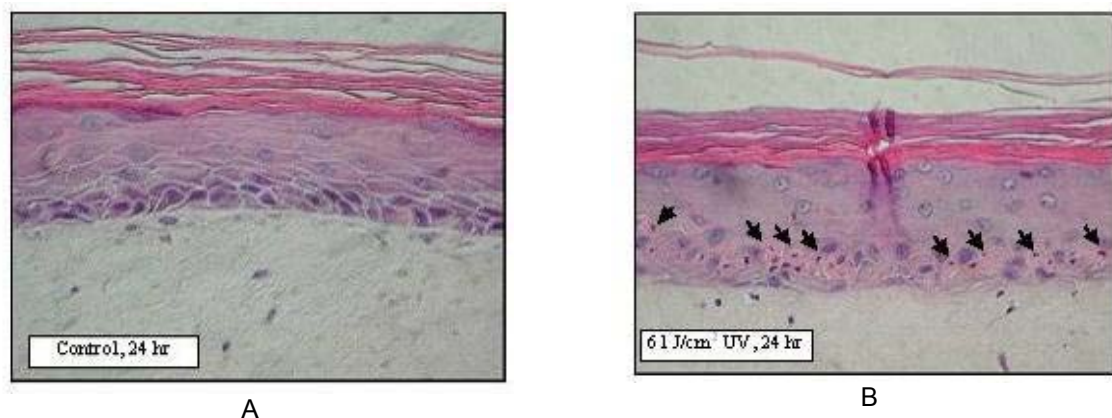
## **Cambios histológicos producidos por la radiación UV**

Los cambios histológicos de la piel inducidos por radiaciones UV se pueden identificar tan pronto como dentro de los primeros 30 minutos después de la exposición, incluso antes que el eritema visible. Existen diferencias cuantitativas y cualitativas significativas, epidérmicas y dérmicas en el caso de la UVB y principalmente dérmicas en el caso de UVA. PUVA tiene efectos tanto epidérmicos como dérmicos que difieren en intensidad de aquellos producidos por UVA, UVB y UVC, pero de mayor duración<sup>9,14</sup>.

La UVB y UVC, y en menor grado UVA y PUVA, producen característicamente células quemadas en la epidermis aparentemente dentro de los primeros 30 minutos de la exposición y es máxima a las 24 a 48 horas, posteriormente, coalescen y forman una banda suprabasal entre las 72 horas y los 7 días de la exposición (**Fig. 5**). Estas células derivan de los queratinocitos dañados y representan células apoptóticas, con citoplasma hialino eosinofílico, núcleo picnótico, que desaparece prematuramente. Estas células se presentan típicamente en grupos dentro de la epidermis, adyacentes a células aparentemente normales. Se desconoce por que algunas células son más susceptibles que otras a éstos cambios pero se cree que dicha susceptibilidad esta mediada por p53 y puede reflejar el daño al DNA que produce la radiación UV en los queratinocitos. Posterior a la radiación con UVA, se observan pocas células quemadas, a menos que se utilice en combinación con un psoraleno, que aumente

---

los efectos biológicos de la misma en la piel, sin embargo el edema intercelular (espongiosis) es un rasgo prominente, también se observa vacuolización perinuclear y nucleolos prominentes en los queratinocitos, estos cambios son mayores entre las 72 horas y los 7 días posteriores a la exposición. La producción de células quemadas permite la eliminación de células con mutaciones evitando su transformación maligna<sup>9,14,20,21</sup>.

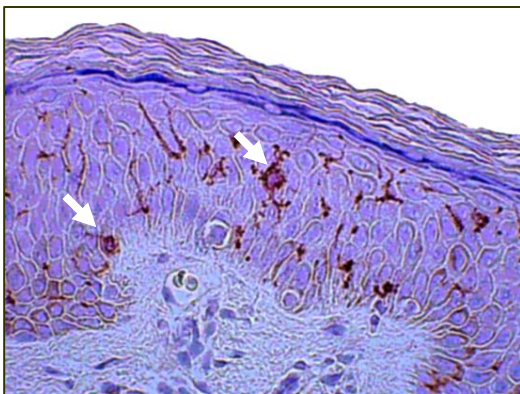
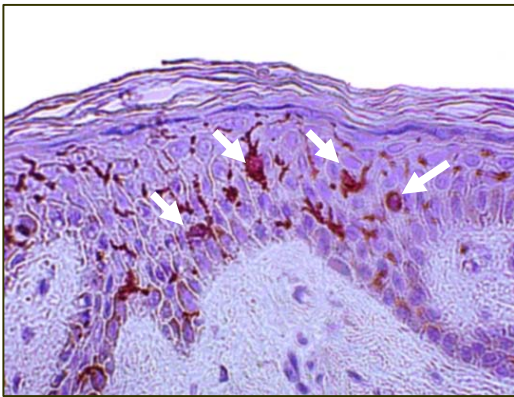


**Fig. 5.** Las células quemadas o células apoptóticas (flechas) se presentan agrupadas formando una banda suprabasal a las 24 horas de la exposición a  $61 \text{ J/cm}^2$  de radiación UV. Es de notar el citoplasma eosinofílico y el núcleo picnótico de estas células.

Otro de los rasgos característicos observados posteriormente a la irradiación con UVB es la disminución rápida de las células de Langerhans (**Fig. 6.**), que inicia dentro de la primera hora con la desaparición casi completa de las mismas a las 24 horas la cual persiste hasta por 72 horas. Se sabe que la radiación UV altera la morfología de las células de Langerhans, disminuyendo sus dendritas y sus marcadores inmunohistoquímicos (MHC clase II y ATPasa). Este cambio en la

---

morfología las hace difíciles de detectar, sin que esto signifique necesariamente que hayan desaparecido. Sin embargo, se sabe que su actividad como presentadoras de antígenos disminuye, e incluso se favorece una inmunosupresión activa. Estas células pueden identificarse con inmunohistoquímica por su positividad al marcador inmunológico CD1a+<sup>14,18,19,22</sup>.



**Fig. 6.** Células de Langerhans (flechas) marcadas con CD1a.

Los cambios dérmicos posteriores a la irradiación con UV incluyen la degranulación de los mastocitos (**Fig. 7.**) dentro de las primeras 24 horas. Particularmente con UVA los vasos sanguíneos superficiales y profundos muestran edema con oclusión parcial de su luz y edema perivascular. También se encuentra un infiltrado perivascular con un pico entre 24 y 72 horas después de la exposición a UV, principalmente de monocitos, linfocitos T y neutrófilos. La UVA produce un infiltrado más denso y profundo en ocasiones con extravasación de eritrocitos, y este infiltrado denso persiste aún 7 días después de la exposición en pacientes tratados con PUVA. La UV genera radicales libres que dañan directamente fibras elásticas y colágenas de la matriz extracelular dérmica<sup>9,14</sup>.



**Fig. 7.** Mastocito en dermis reticular.

La hiperqueratosis, paraqueratosis y acantosis aparecen entre las 72 horas y los 7 días posteriores a la exposición a UVB y UVC, y no se observan dentro de este periodo con UVA y PUVA<sup>9</sup>.

Los cambios histológicos más prominentes después de la exposición a radiación UV se presentan entre las 48 y 72 horas después de la exposición a

UVA, UVB y UVC, mientras que para PUVA, los cambios mas notorios se presentan hasta los 7 días de la exposición<sup>9</sup>.

## **Producción de radicales libres de oxígeno**

Uno de los efectos agudos de la radiación UV sobre la piel es la producción de especies reactivas de oxígeno. La radiación UVA produce estas especies en mayor medida que la radiación UVB. La piel esta en mayor riesgo de sufrir daño por radicales libres, ya que se encuentra expuesta al oxígeno de la sangre y de la atmósfera. La radiación UV, por su parte, es capaz de originar oxígeno molecular y las especies reactivas de oxígeno: anión superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo, que son responsables de la inflamación y del daño a los fosfolípidos de las membranas celulares, del ADN y las proteínas. En la piel originan peroxidación de membranas lipídicas, células disqueratósicas (células quemadas) y, a largo plazo, carcinogénesis y daño de fibras elásticas y colágenas (fotoenvejecimiento). Por otra parte, la radiación UV disminuye la concentración de antioxidantes y la actividad de los sistemas enzimáticos y no enzimáticos en la piel, lo cual favorece el daño oxidativo. La producción de melanina inducida por UV, también contribuye al daño oxidativo ya que durante la melanogénesis se libera  $Ca^{+}$  a partir de los melanosomas<sup>20,21,23,24,25</sup>.

## **SISTEMAS DE DEFENSA DE LA PIEL**

### **Barreras Físicas**

Existen sistemas de defensa de la piel que la protegen contra los efectos nocivos de la radiación UV, entre ellos tenemos a la capa córnea y a los

---

cromóforos que absorben gran parte de la radiación, la pigmentación melánica que depende del fototipo (**Tabla 2**) y los sistemas enzimáticos y no enzimáticos que se encargan de inhibir la acción de los radicales libres.

Fototipo	Fotosensibilidad		Quemadura		Bronceado Intensidad
	Cabello	Piel	1ª Semana	3ª Semana	
<b>0</b>	Blanco	Albino	+++	+++	0
<b>I</b>	Rojo	Lechoso	++	++	0
<b>II</b>	Rubio	Claro	+	Frecuente	Pálido
<b>III</b>	Castaño	Claro	Frecuente	Raro	Medio
<b>IV</b>	Moreno	Mate	Raro	Excepcional	Oscuro
<b>V</b>	Moreno	Moreno	Excepcional	Excepcional	Muy oscuro
<b>VI</b>	Negro	Negro	Ausente	Ausente	Negro

**Tabla 2.** Fototipos de piel de acuerdo a la clasificación de Fitzpatrick.

Los antioxidantes estabilizan los radicales libres potencialmente dañinos producidos por la radiación UV y durante los procesos metabólicos normales y patológicos. De no ser neutralizados, estos radicales libres contribuyen al fotoenvejecimiento y a la fotocarcinogénesis mediante la producción de mutaciones en el ADN celular.

## **Sistemas Enzimáticos**

Los sistemas enzimáticos comprenden el sistema de la superóxido dismutasa, la glutatión peroxidasa y la glutatión reductasa, la catalasa, la glucosa 6-fosfato-deshidrogenasa y la isocitrato deshidrogenasa que inhiben la acción de los radicales libres. El queratinocito, a diferencia de las células dérmicas, es capaz de producir superóxido dismutasa. Se ha observado destrucción de la catalasa y la superóxido dismutasa en queratinocitos irradiados con UVA y UVB <sup>7,14,15,26,27</sup>.



## Sistemas No Enzimáticos

Los antioxidantes no enzimáticos incluyen los antioxidantes lipofílicos como alfa-tocoferol (vitamina E) y ubiquinol 9 y 10 (coenzima Q-10); y dentro de los hidrofílicos encontramos al ácido ascórbico (vitamina C) y al ácido úrico. Algunas vitaminas exógenas como E, C, K y beta carotenos así como oligoelementos como Se, Zn, Cu y Mn también inhiben a los radicales libres<sup>7,15,26,27</sup>. **Tabla 3.**

ANTIOXIDANTE	CONCENTRACIÓN (NMOL/G DE PIEL)	
	Epidermis	Dermis
$\gamma$ -Tocoferol	3.26 $\pm$ 1.00	1.78 $\pm$ 0.15
$\alpha$ -Tocoferol	31.0 $\pm$ 3.8	16.2 $\pm$ 1.10
<b>Total Vitamina E</b>	<b>34.2 <math>\pm</math> 4.6</b>	<b>18.0 <math>\pm</math> 1.06</b>
Ubiquinol 10	3.53 $\pm$ 0.79	0.35 $\pm$ 0.08
Ubiquinona 10	4.12 $\pm$ 0.59	2.86 $\pm$ 0.84
<b>Total Ubiquinol + Ubiquinona</b>	<b>7.66 <math>\pm</math> 0.45</b>	<b>3.15 <math>\pm</math> 0.87</b>
Ácido ascórbico	3798 $\pm$ 1016	723 $\pm$ 320
Ácido dehidroascórbico	3802 $\pm$ 1552	588 $\pm$ 240
<b>Total Vitamina C</b>	<b>7600 <math>\pm</math> 2498</b>	<b>1311 <math>\pm</math> 559</b>
<b>Ácido úrico</b>	<b>1071 <math>\pm</math> 242</b>	<b>182 <math>\pm</math> 24</b>
Glutatión reducido	460.9 $\pm$ 77.4	75.1 $\pm$ 9
Glutatión oxidado	23.3 $\pm$ 6.41	9.6 $\pm$ 3.8
<b>Total glutatión</b>	<b>484.3 <math>\pm</math> 81.4</b>	<b>84.8 <math>\pm</math> 11.5</b>

**Tabla 3.** Antioxidantes en la epidermis y dermis de la piel humana<sup>25</sup>.

## ACIDO ASCÓRBICO COMO ANTIOXIDANTE

La forma activa de la vitamina C se denomina L-ácido ascórbico y se encuentra en forma de ascorbato, una molécula hidrosoluble, en la mayor parte de los sistemas biológicos. Se encuentra en vegetales y cítricos y no es sintetizada por el cuerpo, pero es el antioxidante más importante en el líquido extracelular y en numerosas actividades celulares<sup>28</sup>.

## Farmacodinamia

---

El ácido ascórbico tiene propiedades bien definidas en la piel como antioxidante y como cofactor en la síntesis de colágena. El ascorbato participa en la hidroxilación del procolágeno y estimula directamente la síntesis de colágeno por activación de la transcripción y la estabilización del RNAm de procolágeno. Como antioxidante, el ácido ascórbico es el principal atrapador de electrones, hidrosoluble del cuerpo, lo que lo hace capaz de actuar en ambientes acuosos neutralizando los radicales libres inducidos por UV. Reacciona con o suprime el anión superóxido, el radical hidroxilo y el oxígeno molecular. Además permite la regeneración de las formas oxidadas de alfa tocoferol evitando así, en forma indirecta, la peroxidación lipídica. También se propone que tenga efectos antiinflamatorios ya que tiene la capacidad de reducir el eritema post láser de CO<sub>2</sub>, un indicador clínico de daño dérmico<sup>28,29,30</sup>.

La exposición a radiación UV produce la inducción de apoptosis a través de vías que se superponen. A grandes rasgos, estas vías implican un mediador extracelular o intracelular de muerte celular estimulado por la presencia de especies reactivas de oxígeno producidos por radiación UV formación de puentes entre proteínas, estrés celular o daño al DNA. Las especies reactivas de oxígeno inducidas por UV causan peroxidación lipídica de las membranas celulares y el aumento de c-jun que lleva a la apoptosis a través de la vía mitocondrial. Por otra parte, los radicales libres también pueden activar a p53 e iniciar la cascada de apoptosis. La apoptosis en este contexto es benéfica ya que elimina las células que contienen DNA dañado y que de no eliminarse podrían conducir a mutaciones y carcinogénesis. Estas células apoptósicas en

---

la piel se conocen como células quemadas y sirven como un marcador de daño cutáneo por radiación UV<sup>21</sup>. Darr y cols. demostraron la reducción del eritema inducido por UVB y el número de células quemadas en piel porcina previo tratamiento con ácido ascórbico tópico al 10%, con una media de células quemadas en el grupo control de 8.27 cels/mm contra 5.12 cels/mm en el grupo tratado con vitamina C tópica, mostrando una reducción del 42% de células quemadas con una  $p < 0.05$ . Estos efectos protectores también se presentan con UVA, mostrando una disminución en el número de células quemadas en piel porcina, cuando esta se presensibilizaba con un psoraleno, encontrando una media de 28.62 cels/mm en el grupo control contra 12.1 cels/mm en el grupo tratado con vitamina C con una  $p < 0.02$ <sup>31</sup>. En un estudio de Lin y cols.<sup>32</sup> se encontró una disminución del número de células quemadas posterior a la irradiación de la piel porcina con dosis de UVB de 1 DEM de 27 cels/mm con vehículo hasta 8 cels/mm con el uso de vitamina C tópica y de 35 cels/mm a 25 cels/mm cuando se les irradió con 5 veces la DEM con una  $p < 0.05$ . También se han encontrado resultados similares en piel humana, con el uso de ácido ascórbico solo o en combinación con vitamina E<sup>28,33,34</sup>. Eberline-Koning y cols.<sup>35</sup> encontraron un aumento de la DEM media de 68.5 mJ/cm<sup>2</sup> hasta 96.5 mJ/cm<sup>2</sup> con 1000 UI de tocoferol combinado con 2 g de ácido ascórbico; Fuchs y Kern<sup>36</sup> obtuvieron un aumento de 103 mJ/cm<sup>2</sup> hasta 183 mJ/cm<sup>2</sup> con 2000 UI de tocoferol combinado con 3 g de ácido ascórbico; mientras que Mireles-Rocha y cols.<sup>15</sup> en un estudio realizado en México, encontraron un aumento de 50 a 70 mJ/cm<sup>2</sup> utilizando 1200 UI de tocoferol y 2 g de ácido ascórbico. Estos estudios sugieren que la vitamina C disminuye la respuesta

---

fototóxica inducida por UV y que probablemente este efecto sea dosis dependiente.

Además de su efecto antioxidante, Catani y cols. sugieren que la vitamina C actúa como citoprotector mediante la inhibición de la proteína activadora 1, un activador de la transcripción génica inducido por radiación UV que provoca la muerte de los queratinocitos<sup>37</sup>. En estudios en animales se ha encontrado que un aumento en la ingesta de vitamina C reduce los tumores inducidos por UV<sup>28</sup>.

Aunque la vitamina C no presenta absorción en el espectro de la UVA o UVB, esta puede actuar como fotoprotector contra la RUV debido a sus efectos antioxidantes y antiinflamatorios. La aplicación tópica de compuestos con vitamina C se ve limitada por su inestabilidad ya que se oxida rápidamente, lo que dificulta su absorción<sup>29</sup>.

## **Farmacocinética**

El ácido ascórbico se absorbe rápida y completamente por vía oral, y su absorción disminuye por diarrea intensa. Pasa a la sangre de 1.5 mg/dL ó 15µg/mL. Su concentración aumenta después de la administración pero disminuye rápidamente debido al almacenamiento en los tejidos, su biotransformación y su excreción urinaria. Se almacena en todos los órganos, pero su concentración es mayor en los de mayor actividad metabólica, como la hipófisis, suprarrenal, timo, hígado, riñón, cerebro, glándulas sexuales y tiroides. Alcanza su concentración máxima de 3 a 6 horas de su administración

---

con una vida media de 16 días. La biotransformación y la formación de metabolitos inactivos es de 50 a 70% de la cantidad ingerida. Se excreta por filtración glomerular y reabsorción tubular. Treinta a 50% se excreta en la orina. Acidifica la orina y puede aumentar los niveles de ácido acetilsalicílico (ASA).

## **Precauciones y Contraindicaciones**

Esta contraindicado en úlcera péptica, gastritis, insuficiencia renal, *diabetes mellitus* o tratamiento con anticoagulantes, gota, cistinuria y cálculos renales. Durante el embarazo existe el riesgo de escorbuto en el producto de madres que ingieren gran cantidad de ácido ascórbico. Puede producir hemólisis en neonatos con disminución de la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa. Entre sus efectos adversos se pueden presentar cálculos de oxalato de calcio cuando se ingieren cantidades mayores a 9g/día. Gastritis, náusea, vómito, cefalea, diarrea osmótica, cólicos, prurito, fatiga y somnolencia. Su concentración disminuye con anticonceptivos orales, tetraciclinas y ASA. Disminuye la acción de anticoagulantes cumarínicos, atropina y quinidina y facilita la precipitación de cristales de sulfonamidas.

## **Dosis y Vía de Administración**

El ácido ascórbico ha demostrado ser seguro en altas dosis por periodos prolongados de tiempo, en parte debido a su hidrosolubilidad. La ingesta diaria de más de 1000 veces la dosis recomendada (60mg/día) no ha mostrado efectos adversos<sup>28</sup>.

---

El uso de antioxidantes durante el tratamiento con fototerapia podría disminuir las reacciones fototóxicas agudas y crónicas derivadas de la exposición a radiación UV, disminuyendo, por una parte, la incomodidad de los pacientes por reducción del eritema y el edema, y por otra los efectos oxidativos y mutagénicos que a largo plazo pueden derivar en fotocarcinogénesis y fotoenvejecimiento.

## **HIPÓTESIS**

El L-ácido ascórbico por vía oral, a dosis de 2g/día durante una semana previa a la exposición a 2 veces la DFM, es capaz de reducir en un 40% los efectos agudos de la radiación UV en la piel de pacientes tratados con PUVA.

## **OBJETIVOS**

### **Generales:**

Demostrar que la administración de L-ácido ascórbico por vía oral, a dosis de 2g/día durante una semana previa a la exposición a 2 veces la DFM, es capaz de reducir en un 40% los efectos agudos de la radiación UVA en la piel de pacientes con vitiligo o psoriasis tratados con PUVA.

### **Específicos:**

- Determinar la dosis fototóxica mínima y 2 veces la DFM mediante la prueba de fototest para cada paciente de la muestra al inicio del estudio.
-

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La fototerapia es la exposición a radiaciones no ionizantes con fines terapéuticos y es una modalidad de tratamiento que se utiliza para diversas enfermedades crónicas de la piel, sin embargo, la exposición a radiación ultravioleta produce la formación de especies reactivas de oxígeno que pueden provocar daño a las membranas celulares, a las proteínas (incluyendo elastina y colágeno) y mutaciones genéticas que conducen a muerte celular, fotoenvejecimiento y fotocarcinogénesis. El uso de antioxidantes tópicos y sistémicos se ha propuesto como un medio para disminuir el daño que producen estos radicales libres en la piel y así evitar los efectos crónicos del metabolismo oxidativo, entre ellos la aparición de cáncer de piel. El L-ácido ascórbico es el antioxidante hidrosoluble más importante en el cuerpo, y se cree que un aumento en la ingesta del mismo puede funcionar como fotoprotector. Por lo anterior surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Es capaz el ácido ascórbico por vía oral, a dosis de 2g/día durante una semana previa a la exposición a 2 veces la DFM, de reducir en un 40% los efectos agudos de la radiación UV en la piel de pacientes tratados con PUVA?

## **JUSTIFICACION**

La fototerapia es una modalidad terapéutica útil en una gran variedad de padecimientos dermatológicos, sobre todo en aquellos que no han respondido a tratamientos convencionales. Sin embargo, la exposición crónica a radiaciones UV ha demostrado ser un factor de riesgo para la aparición de cáncer de piel, principalmente no melanoma, de manera que la aplicación de fototerapia se ha visto limitada ante dichos riesgos potenciales. El uso de medicamentos que disminuyan este riesgo podrá aumentar la seguridad de la misma sobre todo en los pacientes que deberán someterse a tratamientos prolongados de acuerdo a su enfermedad de base. El antioxidante hidrosoluble, L-ácido ascórbico, es un medicamento de bajo costo, seguro en su administración a altas dosis y durante tiempos prolongados y ha demostrado disminuir los efectos adversos de la radiación UV en modelos animales y en algunos estudios en humanos, por lo que puede ser considerado buen candidato para su administración concomitante en tratamientos con fototerapia para la disminución de los riesgos derivados de la misma a largo plazo.



El uso de antioxidantes durante el tratamiento con fototerapia podría disminuir las reacciones fototóxicas agudas y crónicas derivadas de la exposición a radiación UV, disminuyendo, por una parte, la incomodidad de los pacientes por reducción del eritema y el edema, y por otra los efectos oxidativos y mutagénicos que a largo plazo pueden derivar en fotocarcinogénesis y fotoenvejecimiento.

## **HIPÓTESIS**

El L-ácido ascórbico por vía oral, a dosis de 2g/día durante una semana previa a la exposición a 2 veces la DFM, es capaz de reducir en un 40% los efectos agudos de la radiación UV en la piel de pacientes tratados con PUVA.

## **OBJETIVOS**

### **Generales:**

Demostrar que la administración de L-ácido ascórbico por vía oral, a dosis de 2g/día durante una semana previa a la exposición a 2 veces la DFM, es capaz de reducir en un 40% los efectos agudos de la radiación UVA en la piel de pacientes con vitiligo o psoriasis tratados con PUVA.

### **Específicos:**

- Determinar la dosis fototóxica mínima y 2 veces la DFM mediante la prueba de fototest para cada paciente de la muestra al inicio del estudio.
-

- Determinar la respuesta fototóxica de la piel en 2 veces la DFM en pacientes con y sin tratamiento con 2g/día de ácido ascórbico evaluando la presencia y el grado de eritema y edema.
  - Cuantificar células quemadas (apoptósicas) por mm de epidermis en piel obtenida por biopsia al inicio del estudio (piel normal) y después de la exposición a PUVA en pacientes con y sin tratamiento con 2g/día de ácido ascórbico.
  - Cuantificar células proliferativas PCNA-ciclina positivas por mm de epidermis por medio de inmunohistoquímica en piel obtenida por biopsia al inicio del estudio y después de la exposición a PUVA.
  - Cuantificar el número de células de Langerhans CD1a+ por mm lineal de epidermis por inmunohistoquímica en piel obtenida por biopsia al inicio del estudio y después de la exposición a PUVA.
  - Cuantificar células cebadas por mm<sup>2</sup> de dermis superficial en piel obtenida por biopsia al inicio del estudio y después de la exposición a PUVA.
  - Comparar los resultados de los pacientes con tratamiento con ácido ascórbico y los pacientes sin tratamiento antioxidante.
-

## **SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS**

### **1. LUGAR DONDE SE REALIZARA EL ESTUDIO:**

Servicio de Fototerapia

Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”

### **2. DISEÑO DEL ESTUDIO:**

**TIPO DE ESTUDIO:** Ensayo clínico, placebo-controlado, aleatorizado, doble ciego.

#### **GRUPOS DE ESTUDIO:**

##### **Características del grupo experimental:**

Pacientes que acudan al servicio de fototerapia de Octubre de 2004 a Julio de 2005, candidatos a tratamiento con PUVA con el diagnóstico de vitiligo o psoriasis y con tratamiento con ácido ascórbico a dosis de 2g/día durante la realización del estudio.

##### **Características de los testigos:**

Pacientes que acudan al servicio de fototerapia de Julio de 2004 a Julio de 2005, candidatos a tratamiento con PUVA con el diagnóstico de vitiligo o psoriasis a quienes se proporcionará 2g/día de placebo (almidón, lactosa y avicel) durante la realización del estudio.

##### **Criterios de inclusión:**

- Pacientes masculinos o femeninos.
- Mayores de 18 años de edad.

- Con diagnóstico de Vitiligo o Psoriasis.
- Con zonas de piel sana en tórax posterior, región lumbar o cara anterior de antebrazos para la realización del fototest y la toma de biopsias.
- Pacientes que sepan leer y escribir y que hayan acudido a sus citas habituales en forma puntual y constante.
- Con fototipo de piel III a IV de Fitzpatrick.
- Que estén de acuerdo con la realización del estudio y firmen una hoja de consentimiento informado. **(Anexo 1)**

**Criterios de exclusión:**

- Mujeres embarazadas o lactando.
- Pacientes con fotosensibilidad o enfermedades de la colágena.
- Pacientes con historia personal de cáncer de piel.
- Pacientes con padecimientos concomitantes que les impidan permanecer de pie en la cabina de fototerapia.
- Pacientes con alteraciones renales o hepáticas demostradas por laboratorio.
- Pacientes con enfermedad ácido péptica, *diabetes mellitus* o tratamiento con anticoagulantes que impidan el uso de ácido ascórbico.
- Pacientes en tratamiento concomitante con medicamentos fotosensibilizantes que puedan interferir con el estudio. **(Anexo 2).**

- Pacientes que hayan recibido tratamiento con fototerapia o radiaciones ionizantes previas al estudio.
- Pacientes con catarata o afaquia.

**Criterios de eliminación:**

- Pacientes que decidan salir del estudio.
- Pacientes que no acudan a 2 ó más citas consecutivas.
- Pacientes que no acudan a su valoración oftalmológica.
- Pacientes cuya biopsia no sea útil para el estudio histopatológico.

**TAMAÑO DE LA MUESTRA:**

Tomando una diferencia esperada de 40% entre el grupo experimental y el control, con un valor de  $\alpha$  de 0.05 y de  $\beta$  de 90% obtenemos un tamaño de muestra de 21.9 pacientes, más el 20% por pérdidas en el seguimiento obtenemos un total de 26 pacientes. Para el estudio se tomaron 17 pacientes en el grupo experimental y 15 pacientes en el grupo testigo con un total de 32 pacientes. Uno de los pacientes en el grupo control no acudió a sus citas por lo que quedó eliminado del estudio, y dos biopsias de pacientes en el grupo experimental no fueron útiles para el estudio por lo que también fueron eliminados. Con un total de 29 pacientes para el análisis estadístico final.

## **ALEATORIZACION**

Se incluyeron en el estudio los casos consecutivos que cumplieron con los criterios de selección. Se asignaron en forma aleatoria y ciega tanto para el investigador como para los sujetos, por medio de una rifa al tratamiento experimental o placebo previamente a la inclusión de los mismos en el estudio.

## **DEFINICIÓN DE VARIABLES:**

### **Variables independientes:**

**Nombre:** Tratamiento con ácido ascórbico

**Definición conceptual:** El L-ácido ascórbico es la forma activa de la vitamina C. Se trata de una molécula hidrosoluble, que se encuentra en presentaciones de tabletas efervescentes de 100mg a 2g.

**Definición operacional:** En forma aleatorizada se dividirá a la muestra en un grupo experimental y un grupo control. A los pacientes del grupo experimental se les indicará tomar 1g de ácido ascórbico cada 12 horas iniciando el día 3 y hasta el día 11 del estudio, los días del fototest (días 0 y 9) deberán ingerir 0.6mg/kg de 8 metoxipsoraleno 2 horas antes de la prueba con una dieta libre de cítricos, grasas o irritantes gástricos. Al grupo control se le indicará ingerir 1g de placebo cada 12 horas iniciando el día 3 y hasta el día 11 del estudio, los días del fototest (días 0 y 9) deberán

ingerir 0.6mg/kg de 8 metoxipsoraleno 2 horas antes de la prueba con una dieta libre de cítricos, grasas o irritantes gástricos.

**Tipo de variable:** Cualitativa.

**Escala de medición:** Nominal dicotómica.

**Unidad de medición:** Grupo experimental, Grupo Control.

**Variables de resultado primario:**

**Nombre:** Células de Langerhans

**Definición conceptual:** Las células de Langerhans son células dendríticas presentadoras de antígenos, que se encuentran entre las células de la capa basal y suprabasal de la epidermis, no son identificables con el microscopio óptico por lo que se requiere de microscopía electrónica o inmunohistoquímica para detectarlas. Estas células pueden identificarse con inmunohistoquímica por su positividad al marcador inmunológico CD1a.

**Definición operacional:** Para el estudio inmunohistoquímico se tomarán secciones de 5 µm de un fragmento de tejido obtenido por biopsia e incluido en parafina, los cortes serán desparafinados con xileno y se rehidratarán con etanol graduado. Se bloqueará la peroxidasa endógena con peróxido de hidrógeno y las muestras se enjuagarán en un buffer de fosfato salino. Para permitir la adecuada intensidad de señal con los anticuerpos correspondientes, los cortes adheridos a las laminillas serán calentados durante 2 a 3 minutos a 120°C en olla de presión con un buffer de citratos

(19mmol/L, pH6.0) por 20 minutos. Las muestras serán incubadas durante la noche a 4° C con un anticuerpo anti-CD1a prediluido 1:500. A continuación serán lavadas por 10 minutos en buffer y se bloquearán en suero al 2% nuevamente. Se aplicará el segundo anticuerpo y se lavará nuevamente con buffer. Se cuantificará el número de células positivas a CD1a con microscopía de luz usando un objetivo 40x. Una célula con núcleo e inmunorreactividad evidente se considerará una célula positiva. El número de células positivas se contará en 10 campos consecutivos y se calculará el promedio por mm de epidermis.

**Tipo de variable:** Cuantitativa.

**Escala de medición:** De razón discontinua.

**Unidad de medición:** Número de células por mm de epidermis.

**Variables de resultado secundarias:**

**Nombre:** Células quemadas

**Definición conceptual:** Estas células derivan de los queratinocitos dañados y son células apoptósicas, con citoplasma hialino eosinofílico, núcleo picnótico, que desaparece prematuramente.

**Definición operacional:** Se definirán a las células quemadas como células con citoplasma hipereosinofílico y núcleo pequeño, hipercromático e irregular en comparación con las células vecinas, localizadas en la epidermis y lejos de zonas de ulceración o ampolla. Se cuantificarán en 10 campos por corte, teñidos con hematoxilina-eosina, con microscopía de luz



a un aumento de 40x y se calculará el número promedio de células quemadas por mm de epidermis.

**Tipo de variable:** Cuantitativa.

**Escala de medición:** De razón discontinua.

**Unidad de medición:** Número de células por mm lineal de epidermis.

**Nombre:** Proliferación de queratinocitos

**Definición conceptual:** Por interacción de los fotones con el ADN epidérmico, después de la inhibición inicial, sigue un aumento en las mitosis de los queratinocitos a partir de las 48 horas. Estas células proliferantes pueden identificarse mediante inmunohistoquímica para PCNA.

**Definición operacional:** Para el estudio inmunohistoquímico se tomarán secciones de 5  $\mu\text{m}$  de un fragmento de tejido obtenido por biopsia e incluido en parafina, los cuales se desparafinarán con xileno y se rehidratarán con etanol graduado. Para permitir la adecuada intensidad de señal con los anticuerpos correspondientes, se calentarán las muestras en olla de presión con un buffer de citratos (19mmol/L, pH6.0) a 120°C por un tiempo de 2 a 3 minutos. Se incubarán con un anticuerpo anti-PCNA de ratón diluido 1:2000, por una hora a temperatura ambiente, Se enjuagarán en buffer por 4 minutos. Se bloqueará la peroxidasa endógena con peróxido de hidrógeno. Se incubarán los cortes con anti IgG murina por 30 minutos a temperatura ambiente, se enjuagarán y se incubarán con HRP-streptavidina

y posteriormente con el sustrato de peroxidasa DAB. Se cuantificará el número de núcleos positivos a PCNA con microscopía de luz usando un objetivo 40x. Un núcleo con inmunorreactividad evidente se considerará positivo. El número de núcleos positivos se contará en 10 campos consecutivos y se obtendrá el promedio de núcleos por mm lineal de epidermis.

**Tipo de variable:** Cuantitativa.

**Escala de medición:** De razón discontinua.

**Unidad de medición:** Número de núcleos PCNA positivos por mm lineal de epidermis.

**Nombre:** Células cebadas

**Definición conceptual:** Las células cebadas o mastocitos son células del infiltrado dérmico, fusiformes con núcleo central redondeado u ovalado que en general se concentran alrededor de los vasos. Su citoplasma posee gránulos que se tiñen con Giemsa, azul de toluidina, azul anciano o con Tricrómico de Gallego, con los dos primeros adquieren una coloración rojo púrpura.

**Definición operacional:** Se definirán a las células cebadas como células del infiltrado dérmico, fusiformes con núcleo central redondeado u ovalado cuyo citoplasma contenga gránulos rojo púrpura al teñirlos con Tricrómico de Gallego. Se cuantificarán en 10 campos por corte con microscopía de

luz a un aumento de 40x y se calculará el número promedio de células cebadas por mm<sup>2</sup> de dermis superficial.

**Tipo de variable:** Cuantitativa.

**Escala de medición:** De razón discontinua.

**Unidad de medición:** Número de células cebadas por mm<sup>2</sup> de dermis superficial.

**Nombre:** Fototoxicidad aguda

**Definición conceptual:** Se considerará como fototoxicidad aguda al eritema y edema de la piel como resultado de la exposición a radiación UV debido a su efecto sobre la permeabilidad y dilatación de los vasos dérmicos.

**Definición operacional:** Se valorará la respuesta por al menos 2 investigadores usando el siguiente método para valorar la intensidad del eritema y el edema: 0= no hay eritema, 1= ligero eritema, 2= eritema visible, no confluyente, sin bordes definidos, 3= eritema confluyente con 4 bordes bien definidos, sin edema, 4= eritema intenso con edema.

**Tipo de variable:** Cualitativa

**Escala de medición:** Ordinal.

**Escala de medición:** De 0 a 4 puntos.

**Variables de población:**

**Nombre:** Vitiligo.

**Definición conceptual:** Enfermedad crónica, asintomática caracterizada por manchas acrómicas, por lo general sin alteraciones sistémicas en la que intervienen factores genéticos, neurológicos, autoinmunitarios y psicológicos, de causa desconocida, que afecta todas las razas y edades.

**Definición operacional:** Se incluirán en el estudio pacientes con diagnóstico de vitiligo, definiendo a éste como la presencia de manchas acrómicas (color blanco mate uniforme) de tamaño variable, de límites bien definidos, que pueden estar localizadas a un solo segmento o diseminadas de evolución crónica y asintomática. Siempre y cuando se cuente con una zona de piel sana (libre de manchas acrómicas) en tórax posterior o glúteos en donde se puedan realizar las pruebas de fototest de al menos 10cm<sup>2</sup>.

**Tipo de variable:** Cualitativa.

**Escala de medición:** Nominal dicotómica.

**Unidad de medición:** Si, No.

**Nombre:** Psoriasis

**Definición conceptual:** Dermatitis crónica, asintomática, caracterizada por placas eritemato escamosas bien definidas que se localizan principalmente en codos, rodillas, región sacra y piel cabelluda, aunque puede afectar toda la superficie cutánea y las uñas. Caracterizada por hiperplasia epidérmica y queratopoyesis acelerada, de causa desconocida, en la que pueden influir factores inmunitarios, genéticos, psicosomáticos, ambientales y bacteriológicos.

**Definición operacional:** Se incluirán en el estudio pacientes con diagnóstico de psoriasis, definiendo a ésta como la presencia de placas eritematosas con escama blanca nacarada de aspecto yesoso que puede cubrir parte de la placa o la totalidad de la misma, de bordes bien definidos y tamaño variable que pueden estar localizadas a un solo segmento o diseminadas, de evolución crónica en brotes y asintomática. Siempre y cuando se cuente con una zona de piel sana (libre de lesiones) en tórax posterior o glúteos en donde se puedan realizar las pruebas de fototest de al menos 10cm<sup>2</sup>.

**Tipo de variable:** Cualitativa.

**Escala de medición:** Nominal dicotómica.

**Unidad de medición:** Si, No.

**Nombre:** Fototipo de piel.

**Definición conceptual:** El fototipo de piel es una forma de clasificar a los individuos según sea su sensibilidad a la radiación ultravioleta. Las características como el color de la piel, de pelo y ojos se asocian al fototipo. Existen 6 variedades de fototipos según Fitzpatrick y se dividen como sigue:

Fototipo	Fotosensibilidad		Quemadura		Bronceado Intensidad
	Cabello	Piel	1 <sup>a</sup> semana	3 <sup>a</sup> semana	
0	Blanco	Albino	+++	+++	0
I	Rojo	Lechoso	++	++	0
II	Rubio	Claro	+	Frecuente	Pálido
III	Castaño	Claro-mate	Frecuente	Raro	Claro o medio
IV	Moreno	Mate	Raro	Excepcional	Oscuro
V	Moreno	Moreno	Excepcional	Excepcional	Muy oscuro

VI	Negro	Negro	Ausente	Ausente	Negro
----	-------	-------	---------	---------	-------

**Definición operacional:** Se valorará al paciente y de acuerdo a sus características se clasificará como fototipo III o IV de Fitzpartick.

**Tipo de variable:** Cualitativa.

**Escala de medición:** Ordinal.

**Unidad de medición:** Fototipo III y Fototipo IV.

**Nombre:** Dosis fototóxica mínima

**Definición conceptual:** La Dosis Fototóxica Mínima (DFM) indica la dosis mínima de UVA capaz de producir eritema perceptible con cuatro bordes definidos 48 horas después de la exposición a UVA en un sujeto que ha ingerido un psoraleno (0.6mg/kg) 2 horas antes de la exposición.

**Definición operacional:** Se aplicarán fototest a todos los pacientes del grupo experimental y del grupo control en el día 0 del estudio para determinar la DFM. Para tal motivo se indicará al paciente la ingesta de 0.6mg/kg de 8 metoxipsoraleno 2 horas antes de la prueba, se elegirá una zona de piel sana de 10cm<sup>2</sup> sobre la que se colocará un parche de material opaco con 6 ventanas de 1.5cm<sup>2</sup> cada una, se cubrirá el resto de la piel del paciente con material fotorreflejante de manera que solo las ventanas quedarán expuestas a la RUV en forma consecutiva, posteriormente se introducirá al paciente en una cabina vertical de UVA-UVB Daavlin Spectra 311/350, y se expondrá la piel a dosis crecientes de UVA iniciando con 6 a 10 J/cm<sup>2</sup> dependiendo de su fototipo de piel y llegando a 20 J/cm<sup>2</sup>, a través

de las ventanas del parche de material opaco. 48 horas después se citará al paciente para determinar la dosis de UVA capaz de inducir el mínimo eritema perceptible y se anotará indicándose también el doble de dicha dosis que se aplicará sobre piel sana el día 9 del estudio y de donde se obtendrá la biopsia que se analizará posteriormente.

**Tipo de variable:** Cuantitativa.

**Escala de medición:** De razón discontinua.

**Unidad de medición:** J/cm<sup>2</sup>.

**Nombre:** Eventos adversos

**Definición conceptual:** Un evento adverso es cualquier signo, síntoma o enfermedad desfavorable y no intencional (incluido algún hallazgo anormal de laboratorio) asociado con el uso de un producto en investigación. Esto incluirá cualquier evento nuevo que no haya estado presente antes del inicio del tratamiento, así como cualquier evento que haya estado presente pero cuya severidad se haya agravado durante el tratamiento. Esto incluye: un evento adverso que ocurra durante el uso de un producto farmacológico en la práctica profesional, un evento adverso que ocurra debido a la sobredosis del fármaco, ya sea accidental o intencional, un evento adverso que ocurra debido al abuso del fármaco y los eventos adversos que ocurran por abstinencia del fármaco.

**Definición operacional:** Se tomara como evento adverso a cualquier signo, síntoma o enfermedad desfavorable y no intencional asociado con el

uso de ácido ascórbico. Esto incluirá cualquier evento nuevo que no haya estado presente antes del inicio del tratamiento, así como cualquier evento que haya estado presente pero cuya severidad se haya agravado durante el tratamiento. Principalmente, se investigará la presencia de náusea, vómito, dolor abdominal, cefalea, diarrea, cólicos, prurito, fatiga, somnolencia y alteraciones urinarias.

**Tipo de variable:** Cualitativa.

**Escala de medición:** Nominal dicotómica.

**Unidad de medición:** Si, No.

**Nombre:** Adherencia al tratamiento.

**Definición conceptual:** Apego al tratamiento.

**Definición operacional:** Se valorará la adherencia al tratamiento contando las tabletas sobrantes al final del tratamiento, tomando como buena adherencia el sobrante de 0 a 1 tableta; regular el sobrante de 2 a 4 tabletas y mala el sobrante de más de 4 tabletas.

**Tipo de variable:** Cualitativa.

**Escala de medición:** Ordinal.

**Unidad de medición:** Buena, regular, mala.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

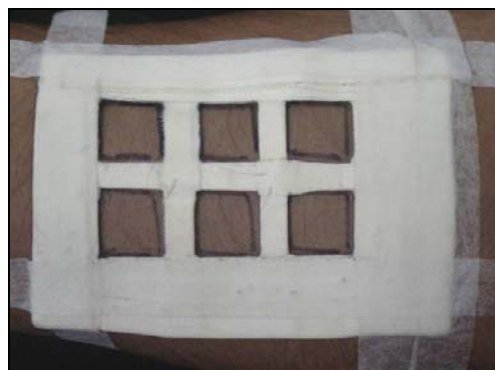
- **Forma de captura y validación de la información en la captura:**
  - Formato de captura de datos (**Anexo 3**)



- Paquete estadístico SPSS versión 11 para Windows.
- **Forma en que se describirán los datos:**
  - Tablas y gráficas.
- **Pruebas estadísticas:**
  - Se describirán los datos con medidas tendencia central y de dispersión.
  - Se compararán las variables cuantitativas con la prueba de U de Mann Witney para comparar entre ambos grupos y la T de Wilcoxon para comparar los resultados antes y después del tratamiento o utilizando la T de Student en aquellas que tengan distribución normal.
- **Presentación de tablas de salida:**
  - Tablas de contingencia y gráficos con barras.

## DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

Se eligió una muestra de 32 pacientes durante el periodo de Octubre de 2004 a Julio de 2005, que cumplieron con los criterios de selección y dieron su consentimiento informado para la realización del estudio. Por medio de una tabla de números aleatorios y con doble ciego se dividió a los pacientes en un grupo experimental y un grupo control. A todos los pacientes se les realizó la prueba inicial de fototest para determinar la dosis fototóxica mínima (DFM) el día 0 del estudio. Para tal motivo se indicó al paciente la ingesta de 0.6mg/kg de 8 metoxipsoraleno 2 horas antes de la prueba, se eligió una zona de piel sana de 10cm<sup>2</sup> sobre la que se colocó un parche de material opaco con 6 ventanas de 1.5cm<sup>2</sup> cada una (**Fig. 8.**), se cubrió el resto de la piel del paciente con material opaco de manera que solo las ventanas quedaron expuestas a la RUV, posteriormente se expuso la piel de dichas ventanas en forma consecutiva a dosis crecientes de UVA iniciando con 6 a 10 J/cm<sup>2</sup> de acuerdo a su fototipo de piel y llegando hasta 20J/cm<sup>2</sup>.



**Fig. 8.** Parche de material opaco, con 6 ventanas utilizado para el fototest.

48 horas después se citó al paciente para determinar la dosis fototóxica mínima y se anotó indicándose también el doble de dicha dosis que se aplicaría sobre piel sana el día 9 del estudio. A los pacientes del grupo experimental se les indicó ingerir 2g de ácido ascórbico del día 3 al día 11 del estudio. Los pacientes del grupo control ingirieron 2g al día de placebo del día 3 al día 11 del estudio. El día 9 se les indicó a todos los pacientes de la muestra la ingesta de 0.6mg/kg de 8 metoxipsoraleno 2 horas antes de la segunda prueba de fototest. Se eligió una zona de piel sana de al menos 5cm<sup>2</sup> en tórax posterior, región lumbar o cara anterior de antebrazo, que no hubiera sido expuesta previamente a RUV, sobre dicha zona se colocó el parche con una ventana de 2cm<sup>2</sup> y se aplicó sobre ella UVA a dosis de 2 veces la DFM. Se citó a los pacientes 48 horas después (día 11) para valorar la zona irradiada y determinar la fototoxicidad aguda así como para la obtención de una biopsia de dicha zona de 5mm de diámetro abarcando hasta tejido celular subcutáneo (**Fig. 9.**), la cual se fijó en formol al 10% y 24 horas después se envió al laboratorio para su procesamiento.



**Fig. 9.** Biopsia obtenida con punch de 5mm en piel sana.

El fragmento se incluyó en parafina y posteriormente se realizaron cortes para el estudio histopatológico con tinción de Hematoxilina-Eosina y Gallego para la determinación de células quemadas y células cebadas respectivamente y para la realización de inmunohistoquímica para la determinación de células CD1a positivas y núcleos PCNA positivos. Para el estudio inmunohistoquímico se tomaron secciones de 5  $\mu\text{m}$  de un fragmento de tejido obtenido por biopsia e incluido en parafina, los cuales se desparafinaron con xileno y se rehidrataron con etanol graduado. Se bloqueó la peroxidasa endógena con peróxido de hidrógeno y las muestras se lavaron en un buffer de fosfato salino. Para permitir la adecuada intensidad de señal con los anticuerpos correspondientes, se precalentaron las muestras en olla de presión con un buffer de citratos (19mmol/L, pH6.0) por un total de 20 minutos. Las muestras fueron incubadas en anticuerpos contra CD1a para células de Langerhans y contra PCNA para queratinocitos proliferativos. Para células de Langerhans se cuantificó el número de células positivas a CD1a con microscopía de luz usando un objetivo 40x. Una célula con núcleo e inmunorreactividad clara se consideró una célula positiva. El número de células positivas se contó en 10 campos consecutivos y se calculó el promedio por mm de epidermis. En cuanto a los queratinocitos proliferativos, el número de núcleos positivos se contaron en 10 campos consecutivos y se calcularon el promedio de núcleos



## **FACTIBILIDAD Y ASPECTOS ÉTICOS**

De acuerdo con los requerimientos normativos institucionales, el protocolo fue revisado y aprobado por el Comité de Ética Local o Comité de Investigación Local. Todos los pacientes que participaron en el estudio firmaron su Consentimiento Informado. **(Anexo 1)**

## **RECURSOS**

### **RECURSOS HUMANOS:**

Investigadores del proyecto.

Personal del Laboratorio de Inmunoterapia Experimental del departamento de Biología Celular y Tisular, Facultad de Medicina, UNAM.

### **RECURSOS MATERIALES:**

Ácido ascórbico

Placebo

8-Metoxipsoraleno

Cabinas de fototerapia

Material para fototest

Equipos de biopsia

Tinciones de Hematoxilina-Eosina y Gallego

Material para procesamiento de biopsias

Marcadores inmunohistoquímicos PCNA y CD1a+



## RESULTADOS

Se incluyeron un total de 31 sujetos 13 hombres (41.9%) y 18 mujeres (58.1%), 14 en el grupo placebo y 17 en el grupo experimental. Con una media de edad de 40.5 años (rango 16 a 74 años). El 61.30% de los pacientes presentaban un fototipo IV de Fitzpatrick y 38.70% un fototipo III. En la mayoría de los pacientes el diagnóstico de ingreso fue de vitiligo, un paciente con psoriasis y una paciente con alopecia *areata*. Se cuantificaron las células de Langerhans, las células quemadas, las células proliferativas (PCNA positivas) y los mastocitos en piel sana previamente al inicio del tratamiento y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos, excepto por la cantidad de mastocitos que fue significativamente mayor en el grupo placebo que en el grupo control. También se realizó el primer fototest en piel sana para determinar la Dosis Fototóxica mínima en ambos grupos; la media de la DFM en el grupo placebo fue de 13.86 J/cm<sup>2</sup> y en el grupo experimental fue de 12.71 J/cm<sup>2</sup> con una p=0.32.

**Tabla 4.**

Variable	Unidad o categoría	Placebo (DE)	Ácido ascórbico (DE)	Total (DE)	Valor de p
<b>N</b>	Pacientes	14.00	17.00	31.00	
<b>Sexo</b>	Masculino	7.00	6.00	13.00	0.409
	Femenino	7.00	11.00	18.00	
<b>Edad</b>	Años	37.43 (12.66)	43.00 (14.37)	40.48 (13.69)	0.267
<b>Fototipo</b>	III	4.00	8.00	12.00	0.293
	IV	10.00	9.00	19.00	
<b>DFM</b>	J/cm <sup>2</sup>	13.86 (3.46)	12.71 (2.91)	13.23 (3.17)	0.322
<b>C. de Langerhans</b>	Células/mm	14.86 (5.51)	14.63 (5.88)	14.74 (5.61)	0.917
<b>C. disqueratósicas</b>	Células/mm	0.12 (0.27)	1.10 (2.13)	0.63 (1.60)	0.100
<b>C. PCNA positivos</b>	Células/mm	15.16 (7.65)	15.06 (10.16)	15.11 (8.88)	0.978
<b>Mastocitos</b>	Células/mm <sup>2</sup>	47.15 (32.41)	19.52 (21.44)	32.86 (30.25)	0.011

**Tabla 4.** Características de los grupos al inicio del tratamiento.



Se inició el tratamiento con ácido ascórbico o placebo a dosis de 2g al día por 7 días, posteriormente se expuso una zona de piel sana a RUV a dosis de 2 veces la DFM. Dos pacientes se eliminaron debido a que las muestras de tejido no fueron adecuadas para el análisis. Dos pacientes del grupo control y 3 del grupo placebo se eliminaron del análisis por protocolo debido a su mala adherencia al tratamiento.

### **RESULTADOS DE LA VALORACIÓN CLÍNICA**

Se realizó la evaluación clínica de la zona expuesta a 2 veces la DFM a las 48 horas para determinar la intensidad de la reacción fototóxica (**Fig. 10**), observándose que los pacientes del grupo tratado con ácido ascórbico presentaron menor grado de fototoxicidad que los pacientes del grupo control de manera que 91.7% de los pacientes en el grupo tratado con placebo presentaron algún grado de fototoxicidad en comparación con tan solo el 50% de los pacientes tratados con ácido ascórbico ( $p=0.034$ ). Los resultados se muestran en la **Tabla 5**:



A

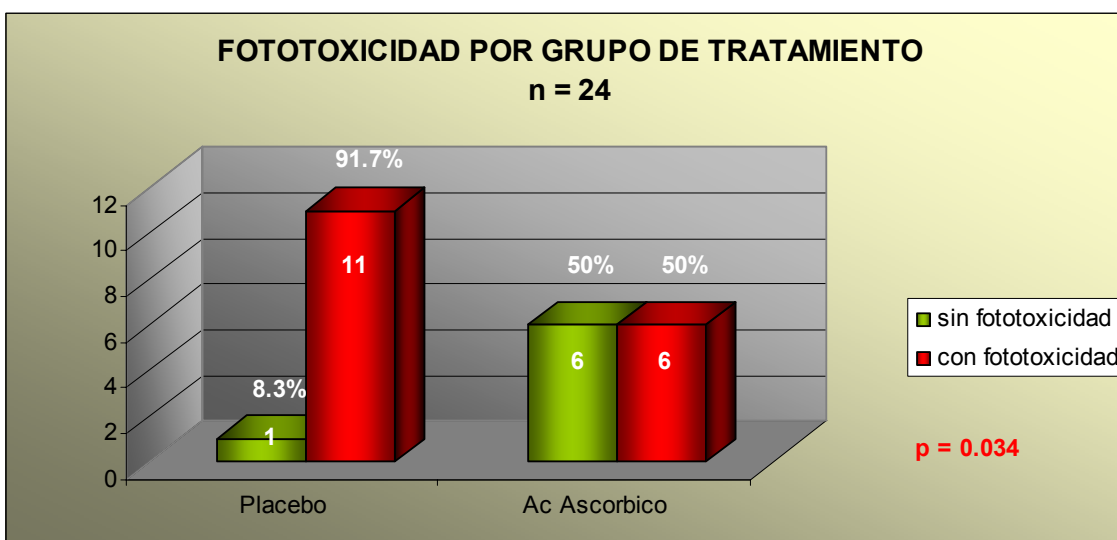


B

**Fig. 10. A)** Paciente del grupo control, presenta eritema confluyente con 4 bordes bien definidos, sin edema obteniendo una puntuación de 3. **B)** Paciente del grupo experimental, presenta ligero eritema, sin bordes definidos obteniendo una calificación de 1.

VARIABLE n = 24	CATEGORÍA	PLACEBO		AC. ASCÓRBICO		TOTAL	
		Número	%	Número	%	Número	%
FOTOTOXICIDAD	p=0.094						
	0	1	8.30	6	50.00	7	29.20
	1	7	58.30	4	33.30	11	45.80
	2	2	16.70	0	0.00	2	8.30
	3	2	16.70	2	16.70	4	16.70
FOTOTOXICIDAD	p=0.034						
	SI	11	91.70	6	50.00	17	70.80
	NO	1	8.30	6	50.00	7	29.20

**Tabla 5.** Comparación entre los resultados de Fototoxicidad medida por 2 observadores en el grupo control y el grupo experimental.



**Gráfica 1.** Fototoxicidad por grupo de tratamiento. Se puede observar que la mayor parte de los pacientes del grupo placebo (91.7%) presentaron datos de fototoxicidad visibles a las 48 horas de la exposición a 2 veces la DFM comparados con tan solo la mitad (50%) de los pacientes en el grupo experimental.

Los pacientes presentaron pigmentación en las zonas expuestas a  $12.43 \pm 3.5$  J/cm<sup>2</sup> en el grupo control y  $11.18 \pm 3.8$  J/cm<sup>2</sup> en el grupo experimental con una p no significativa de 0.35. **Fig. 11.**

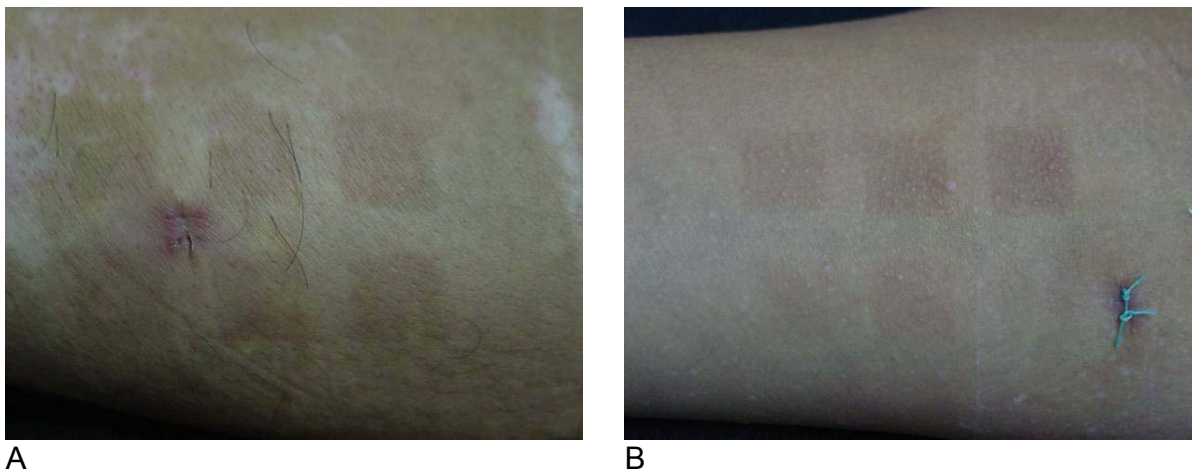


Fig. 11. A) Pigmentación tardía en un paciente del grupo control. B) Pigmentación tardía en un paciente del grupo experimental.

## RESULTADOS DE LA VALORACIÓN HISTOLÓGICA

Se obtuvo la biopsia de la zona de piel irradiada con 2 veces la DFM para la cuantificación de células de Langerhans, células quemadas, células proliferativas y mastocitos. Los resultados se muestran en la **Tabla 6**.

Tipo de Célula	Unidad	Placebo		Acido ascórbico		P
		Inicial	Final	Inicial	Final	
Langerhans	Células/mm	14.86	12.13	14.63	12.54	0.836
Disqueratóticas	Células/mm	0.12	5.57	1.10	2.21	0.188
PCNA positivas	Células/mm	15.16	33.21	15.06	26.23	0.328
Mastocitos	Células/mm <sup>2</sup>	47.15	33.43	19.52	23.07	0.339

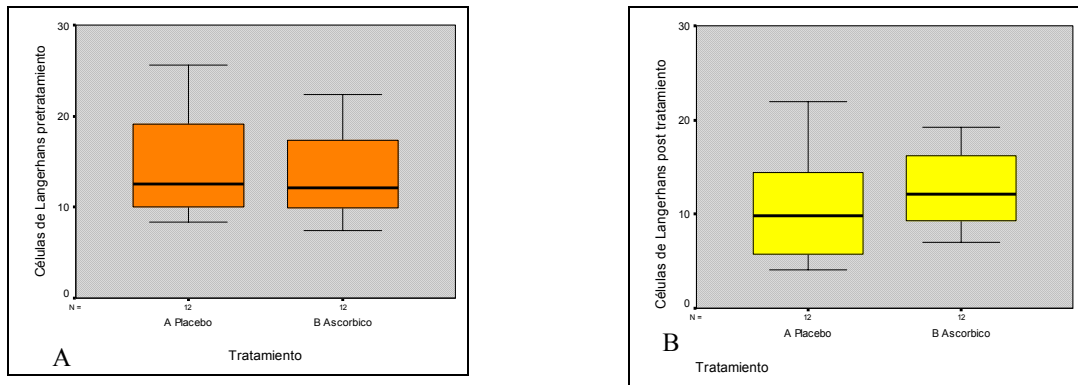
**Tabla 6.** Media de células en la zona expuesta a RUV posterior a la ingesta de ácido ascórbico o placebo durante 7 días. N = 29 pacientes.

Cuando se eliminaron a los pacientes con mala adherencia al tratamiento que pudiera interferir con la medición se obtuvieron los siguientes resultados (**Tabla 7**):

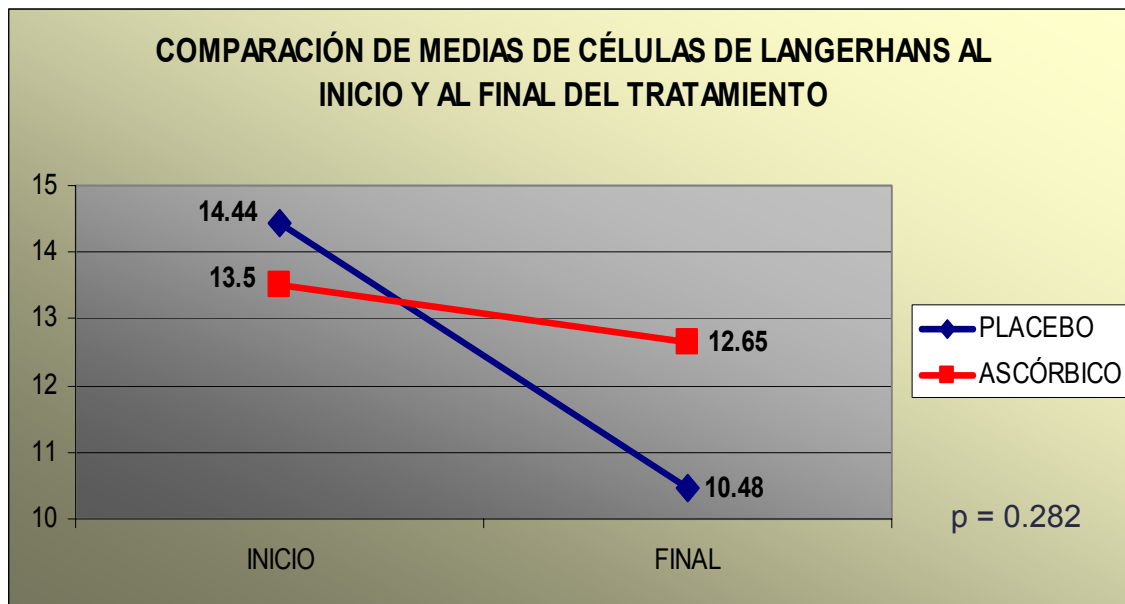
Tipo de Célula	Unidad	Placebo		Acido ascórbico		P
		Inicial	Final	Inicial	Final	
Langerhans	Células/mm	14.44	10.48	13.50	12.65	0.282
Disqueratóticas	Células/mm	0.07	6.45	0.83	0.40	0.021
PCNA positivas	Células/mm	15.76	32.90	14.81	24.04	0.289
Mastocitos	Células/mm <sup>2</sup>	45.00	38.10	18.14	24.81	0.285

**Tabla 7.** Media de células en la zona expuesta a RUV posterior a la ingesta de ácido ascórbico o placebo durante 7 días. N = 24 pacientes con buena adherencia al tratamiento.

A continuación se muestran las gráficas de las medias de células de Langerhans (células/mm de epidermis) antes y después del tratamiento en el grupo Placebo y en el grupo tratado con ácido ascórbico. Aún cuando se evidenciaron diferencias en las medias de las células entre el grupo control y el grupo experimental, al hacer la comparación de las medias con la prueba de ANOVA para un factor se encontró que éstas diferencias no eran estadísticamente significativas con una  $p=0.282$ . **Gráficas 2 y 3.**

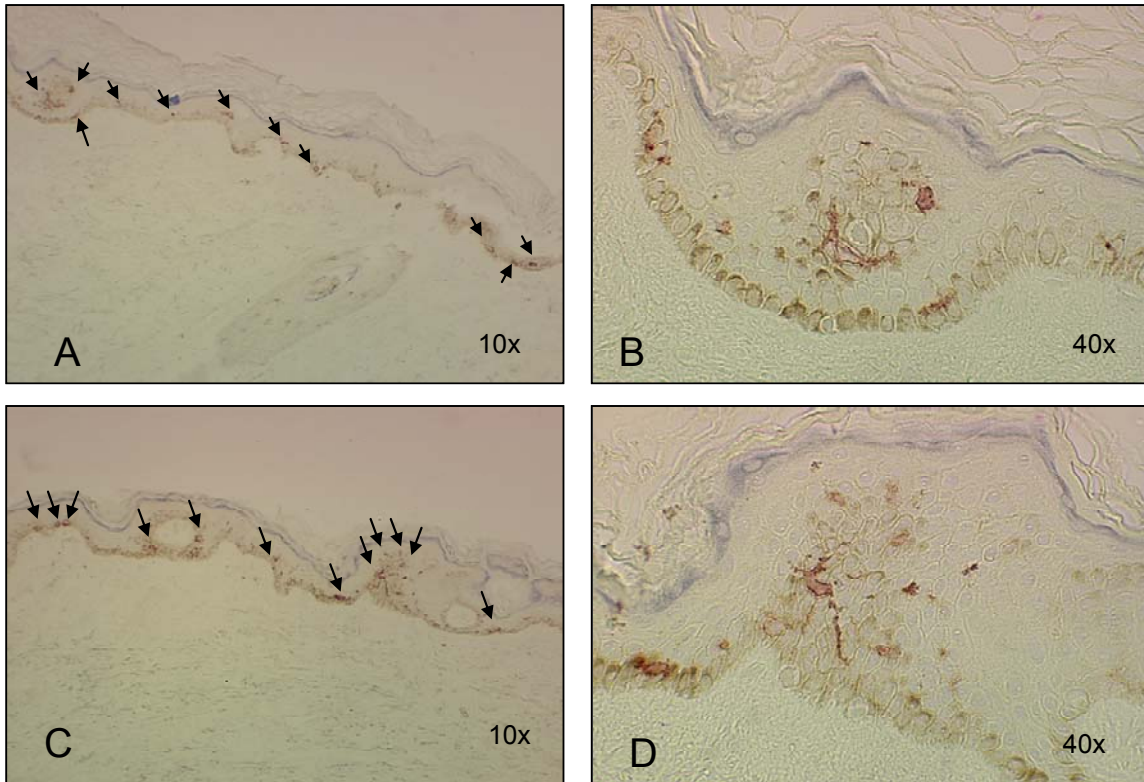


**Gráfica 2. A)** Media de células de Langerhans medidas en piel sana pretratamiento (grupo Control  $14.44 \pm 5.58$  y grupo Experimental  $13.50 \pm 5.02$ ). **B)** Media de células de Langerhans medidas en piel radiada postratamiento (grupo Control  $10.48 \pm 5.42$  y grupo Experimental  $12.65 \pm 4.14$ ).

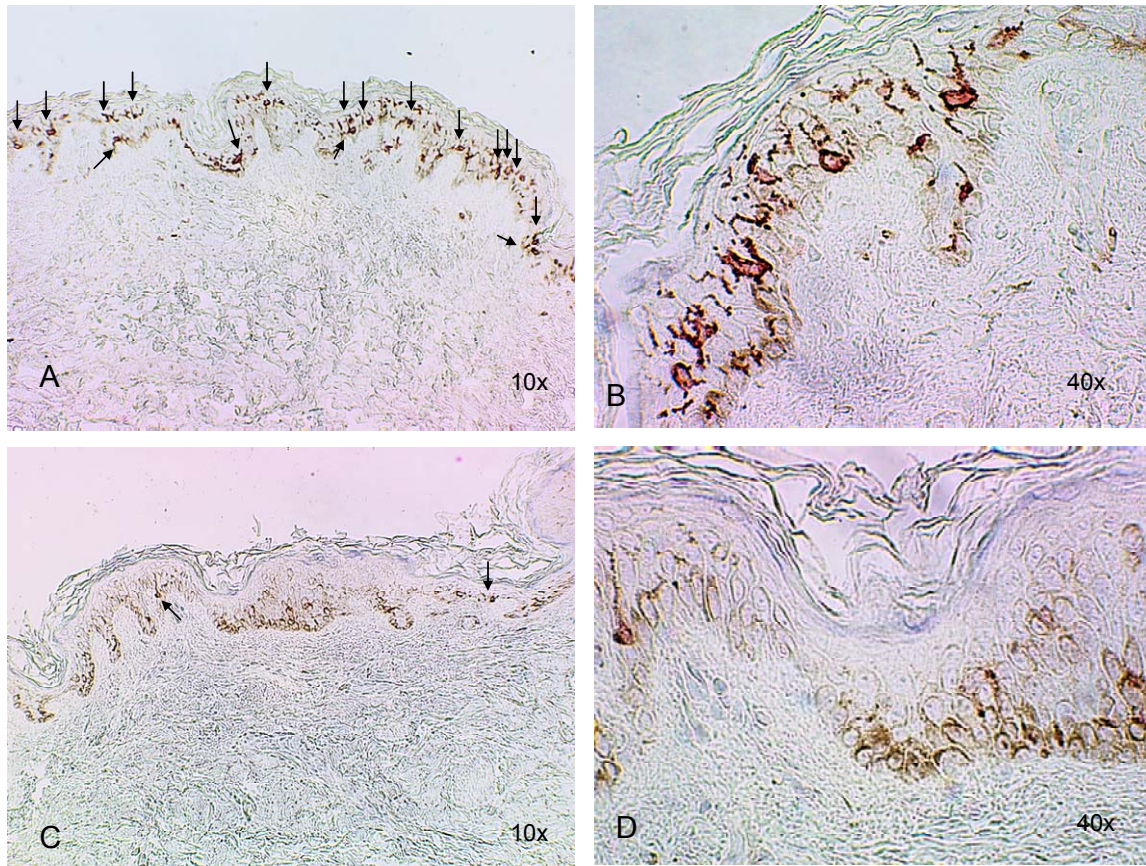


**Gráfica 3.** Se puede observar que la disminución de la media de células de Langerhans fue mayor en el grupo placebo que en el grupo experimental. Sin embargo esta diferencia no resultó estadísticamente significativa.

Para cuantificar las células de Langerhans, las muestras fueron incluidas con un anticuerpo anti-CD1a y se cuantificó el número de células positivas con microscopía de luz usando un objetivo de 40x. Una célula con núcleo e inmunoreactividad evidente se consideró una célula positiva. El número de células positivas se contó en 10 campos consecutivos y se calculó el promedio por mm de epidermis. Algunos ejemplos se muestran a continuación (**Fig. 12 y 13**):



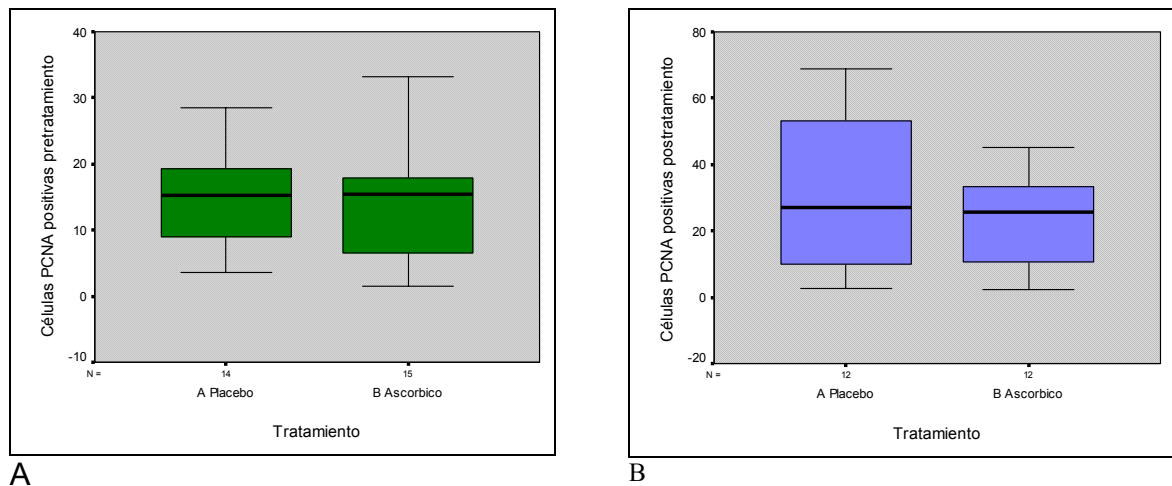
**Fig. 12.** Paciente del grupo Experimental. Las **Fig. 12a** y **12b** muestran cortes de piel sana marcados con anti-CD1a a 10x y 40x respectivamente en los que se pueden observar las células de Langerhans marcadas en color rojo marrón. Las **Fig. 12c** y **12d** muestran cortes de piel post radiación a dosis de 2 veces la DFM a 10x y 40x respectivamente en los que se puede observar que el número aproximado de las células de Langerhans permanece constante así como su morfología.



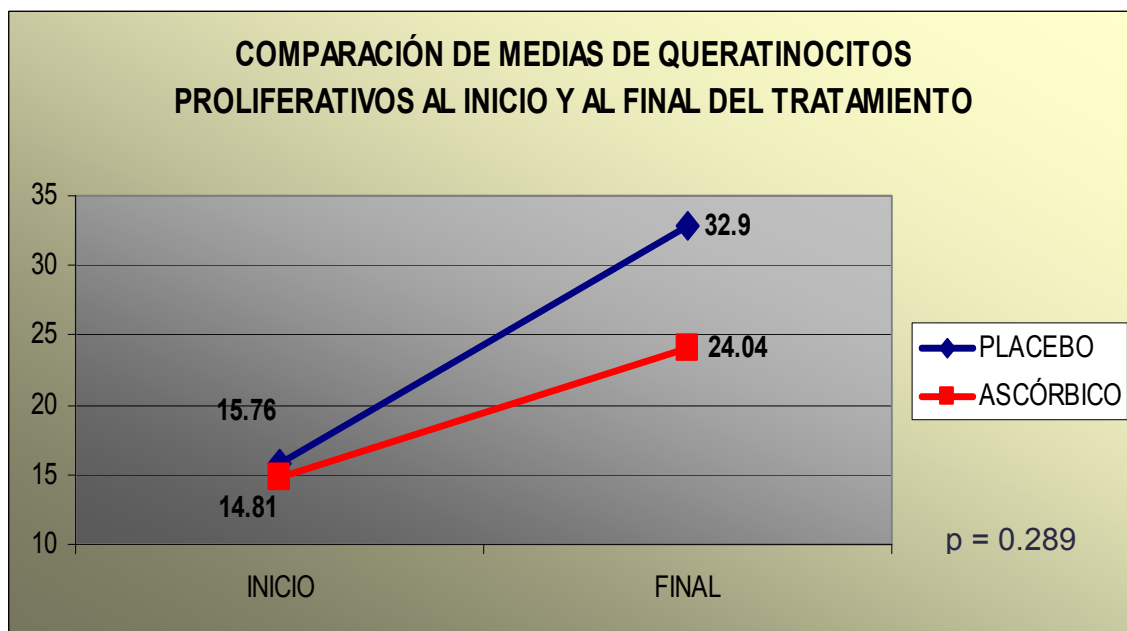
**Fig. 13.** Paciente del grupo Control. Las **Fig. 13a** y **13b** muestran cortes de piel sana marcados con anti-CD1a a 10x y 40x respectivamente en los que se pueden observar las células de Langerhans marcadas en color rojo marrón. Las **Fig. 13c** y **13d** muestran cortes de piel post radiación a dosis de 2 veces la DFM a 10x y 40x respectivamente, en los que se puede observar una disminución importante de las células de Langerhans.

En cuanto a los queratinocitos proliferativos, el número de núcleos positivos se contaron en 10 campos consecutivos y se calculó el promedio de núcleos proliferativos por mm lineal de epidermis (**Figs. 14 y 15**). A continuación se muestran las gráficas de las medias de células proliferativas (células/mm de epidermis) antes y después del tratamiento en el grupo Placebo y en el grupo tratado con Acido ascórbico. En este caso, aún cuando se observaron mayores aumentos en el número de células proliferativas en los pacientes del grupo

placebo, al realizar la comparación de las medias con la prueba de ANOVA para un factor se encontró que dichas diferencias no eran estadísticamente significativas con una  $p= 0.32$ . **Gráficas 4 y 5.**

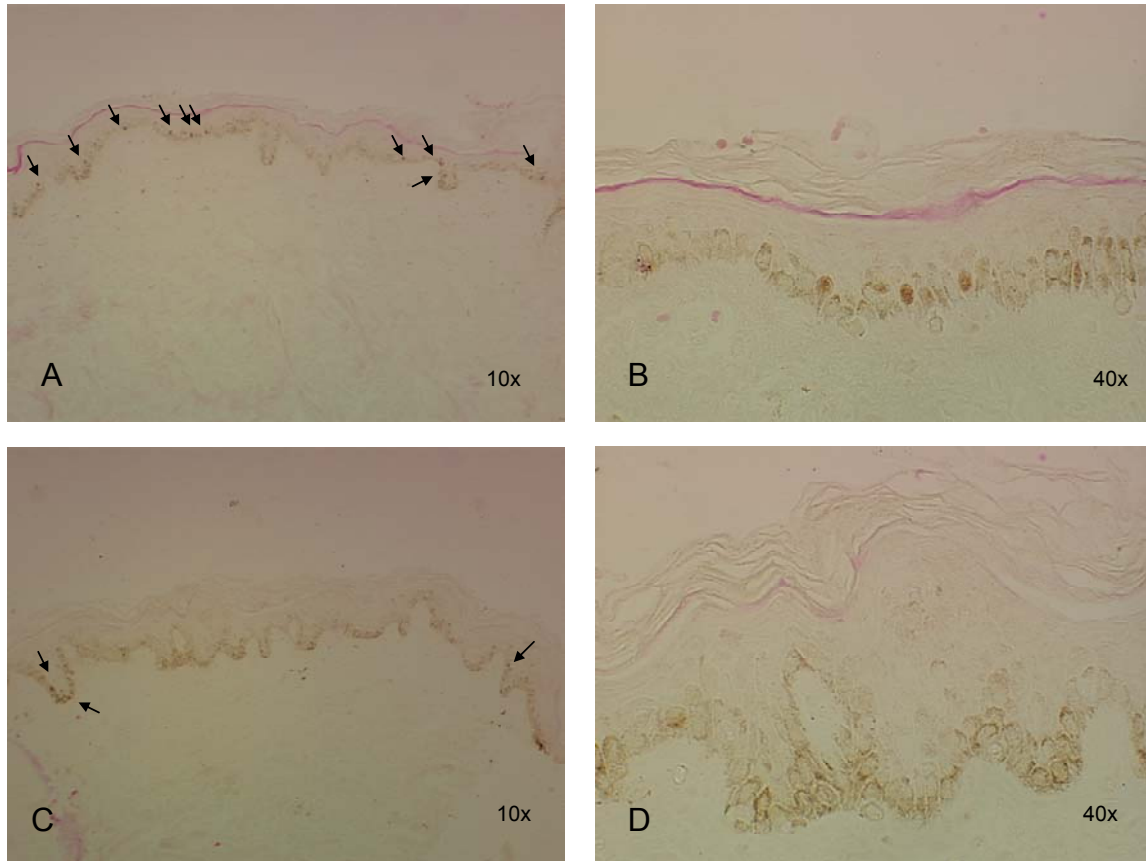


**Gráfica 4. A)** Media de células PCNA positivas medidas en piel sana pretratamiento (grupo Control  $15.16 \pm 7.65$  y grupo Experimental  $15.06 \pm 10.16$ ). **B)** Media de células PCNA positivas medidas en piel radiada postratamiento (grupo Control  $33.21 \pm 23.02$  y grupo Experimental  $26.23 \pm 13.92$ ).

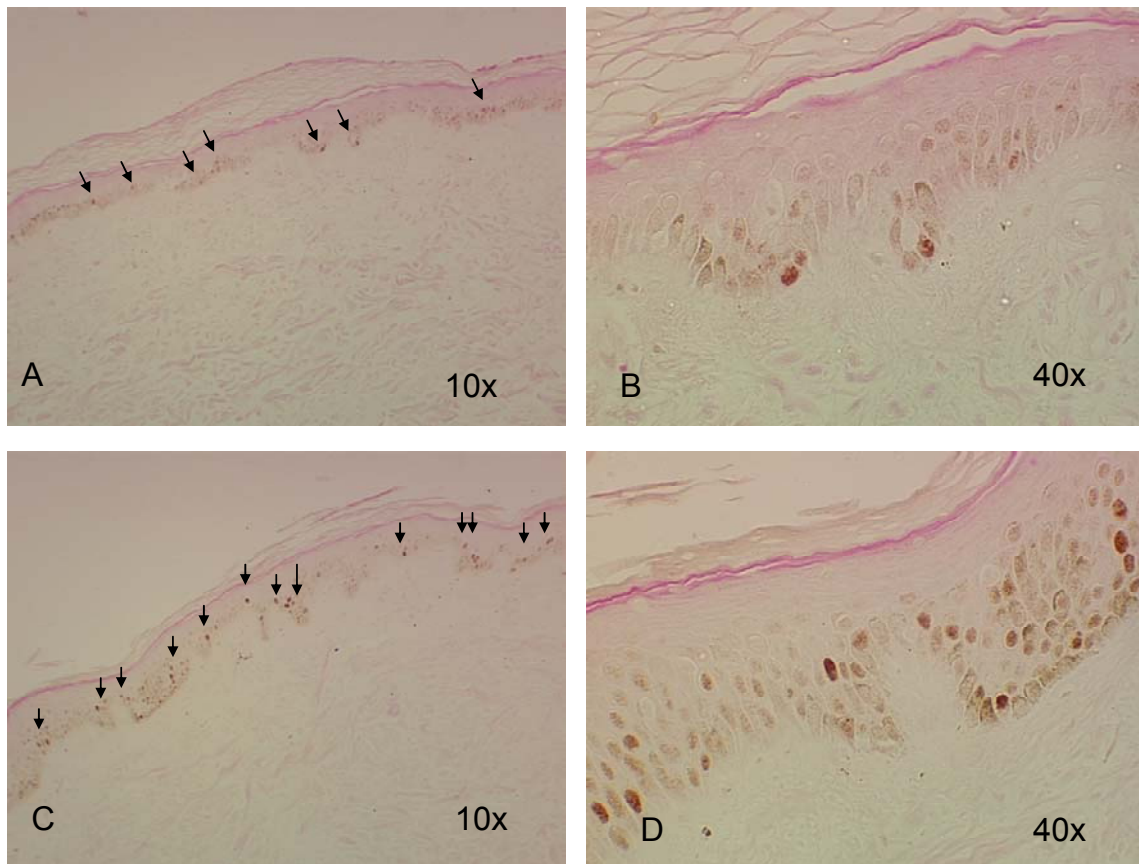




**Gráfica 5.** A pesar de que el aumento en la cantidad de células proliferativas fue mayor en el grupo placebo que en el grupo experimental, esta diferencia no resultó estadísticamente significativa.



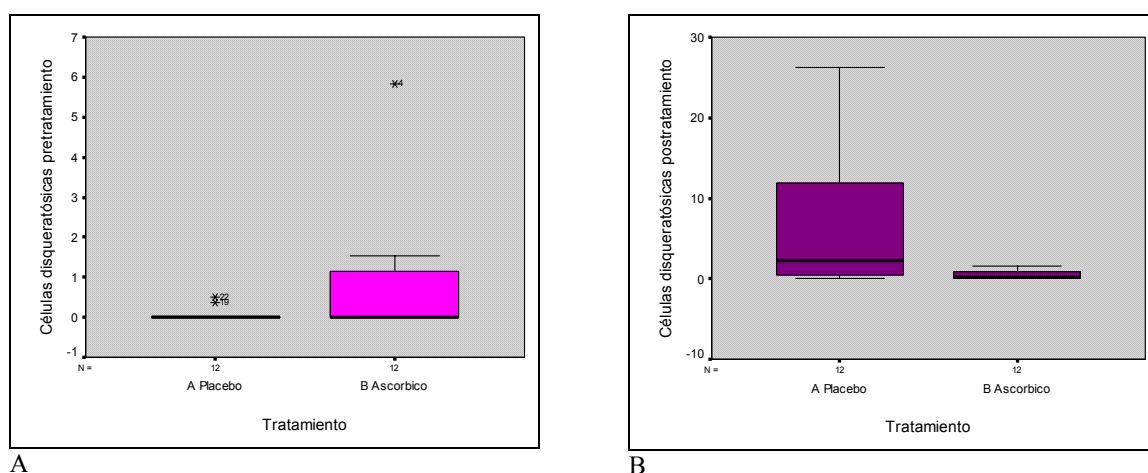
**Fig. 14.** Paciente del grupo Experimental. Las **Fig. 14a** y **14b** muestran cortes de piel sana marcados con anti-PCNA a 10x y 40x respectivamente en los que se pueden observar las células proliferativas marcadas en color rojo marrón. Las **Fig. 14c** y **14d** muestran cortes de piel post radiación a dosis de 2 veces la DFM a 10x y 40x respectivamente en los que se puede observar que el número de células proliferativas ha disminuido en lugar de aumentar como se esperaría debido al daño por RUV.



**Fig. 15.** Paciente del grupo Control. Las **Fig. 15a** y **15b** muestran cortes de piel sana marcados con anti-PCNA a 10x y 40x respectivamente en los que se pueden observar las células proliferativas marcadas en color rojo marrón. Las **Fig. 15c** y **15d** muestran cortes de piel post radiación a dosis de 2 veces la DFM a 10x y 40x respectivamente en la que se observa un aumento del número de células proliferativas como resultado de la exposición a RUV.

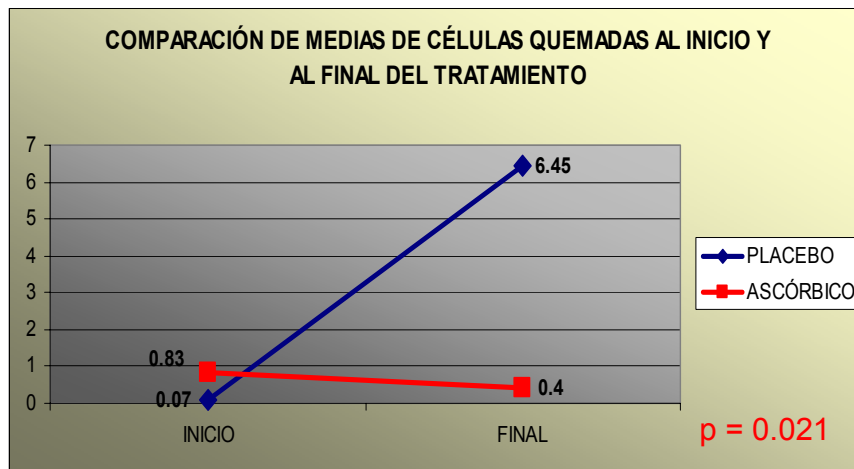
Para la determinación de células quemadas se desparafinaron los cortes y se tiñeron con Hematoxilina-Eosina. Se identificaron las células con citoplasma hipereosinofílico y núcleo pequeño, hiper cromático e irregular, localizadas en la epidermis y lejos de zonas de ulceración o ampolla. Se cuantificaron en 10 campos por corte, con microscopía de luz con un aumento de 40x y se calculó el número promedio de células quemadas por mm de epidermis. Solo se pudieron observar células aisladas en algunos de los pacientes. La media de células

disqueratósicas en piel sana fue de 0.07 células/mm en el grupo placebo y de 0.83 células/mm en el grupo experimental, y estas aumentaron hasta 6.45 células/mm en el grupo control y disminuyeron a tan solo 0.40 células/mm en el grupo experimental, resultando en una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.021$ ). **Gráfica 6 y 7.**



**Gráfica 6. A)** Media de células disqueratósicas medidas por mm<sup>2</sup> de piel sana pretratamiento (grupo Control  $0.073 \pm 0.17$  y grupo Experimental  $0.839 \pm 1.67$ ). **B)** Media de células disqueratósicas medidas en piel radiada postratamiento (grupo Control  $6.45 \pm 8.44$  y grupo Experimental  $0.40 \pm 0.52$ ).

Al hacer el análisis de riesgo relativo, se encontró que la ingesta de ácido ascórbico disminuye el riesgo de presentar apoptosis en un 63% (RR 0.37 IC 95% 0.13-1.08), y que los pacientes en tratamiento con placebo presentaron 120% más riesgo de apoptosis que los del grupo experimental (RR 2.2 IC 95% 0.94-5.34), sin embargo, se requieren estudios con un número mayor de pacientes para comprobar estos resultados, ya que los intervalos de confianza rebasan la unidad.

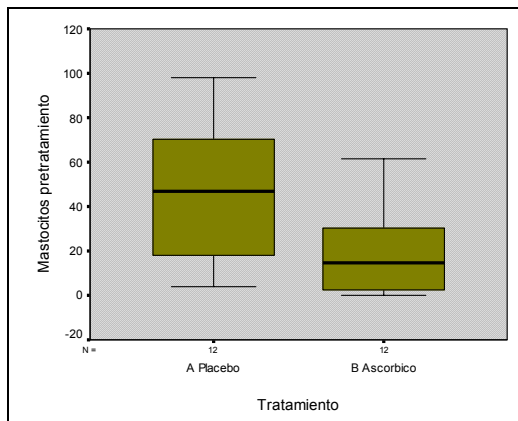


**Gráfica 7.** Se puede observar que el aumento de las células disqueratóticas en el grupo placebo fue significativamente mayor que en el grupo experimental.

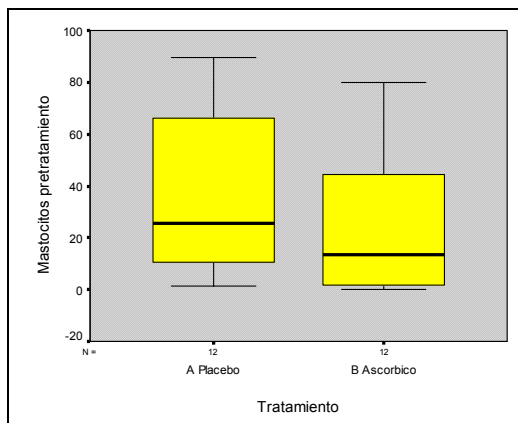
Para las células cebadas se identificaron las células fusiformes con núcleos redondos u ovalados con gránulos rojo púrpura en su citoplasma y se cuantificaron en 10 campos obteniendo el promedio de células por  $\text{mm}^2$  de dermis superficial. En este caso se observaron resultados opuestos en ambos grupos con disminución de mastocitos en el grupo placebo de  $47.15 \text{ células/mm}^2$  a  $33.43 \text{ células/mm}^2$  y aumento ligero de mastocitos en el grupo experimental de  $19.52 \text{ células/mm}^2$  a  $23.07 \text{ células/mm}^2$  sin que esta diferencia resultara estadísticamente significativa ( $p=0.339$ ). **Gráfica 8 y Fig. 16.**

*Efecto del ácido ascórbico sobre el daño agudo por UVA en pacientes de fototerapia*

---

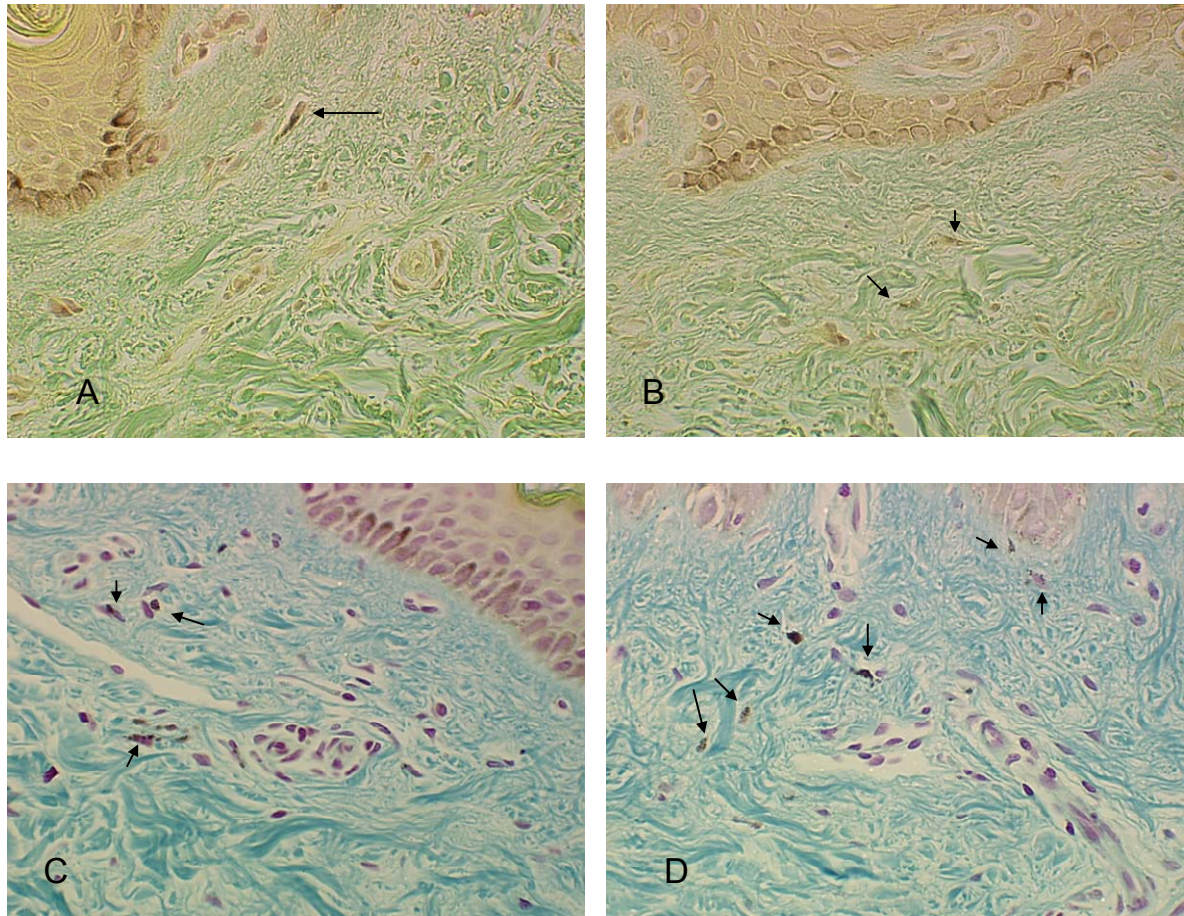


A



B

**Gráfica 8. A)** Media de células cebadas medidas por mm<sup>2</sup> de dermis superficial en piel sana pretratamiento (grupo Control 47.15 ± 32.41 y grupo Experimental 19.52 ± 21.44). **B)** Media de células cebadas medidas por mm<sup>2</sup> de dermis superficial en piel radiada postratamiento (grupo Control 33.43 ± 31.28 y grupo Experimental 23.07 ± 25.98).



**Fig. 16.** Tinción de Tricrómico de Gallego a 40x. Las **Fig. 16a** y **16b** muestran cortes de piel pre y post radiación respectivamente en un paciente del grupo control en los que se pueden observar las células cebadas caracterizadas por la presencia de gránulos intracitoplasmáticos en color rojo. Las **Fig. 16c** y **16d** muestran cortes de piel pre y post radiación respectivamente en un paciente del grupo experimental.

## RESULTADOS EVENTOS ADVERSOS Y ADHERENCIA AL TRATAMIENTO

Se observaron eventos adversos en 9 pacientes (29%), 5 del grupo Placebo y 4 del grupo Experimental (p=0.63). Los eventos adversos más frecuentes fueron prurito y somnolencia sin que llegaran a requerir la suspensión temporal o total del tratamiento; los resultados se muestran en la **Tabla 8**:

Síntoma	Número de Pacientes	Porcentaje del Total
Prurito	3	9.7%
Somnolencia	3	9.7%
Dolor abdominal	2	6.5%
Cefalea	2	6.5%
Fatiga	2	6.5%
<b>Total de Eventos</b>	<b>12 (9 pacientes)</b>	<b>29%</b>

**Tabla 8.** Eventos adversos en los pacientes de la muestra.

En cuanto a la adherencia al tratamiento, el 83% de los pacientes de la muestra presentaron adherencia buena o regular al tratamiento de manera que no perdieron más de 2 dosis del medicamento durante el tratamiento. Los resultados se muestran en la **Tabla 9**.

ADHERENCIA	PLACEBO		ASCÓRBICO		TOTAL	
	Número	%	Número	%	Número	%
p=0.767						
<b>Buena</b>	8	57.10	11	64.70	19	61.30
<b>Regular</b>	4	28.60	3	17.60	7	22.60
<b>Mala</b>	2	14.30	3	17.60	5	16.10

**Tabla 9.** Porcentaje de adherencia al tratamiento entre los pacientes de la muestra.

## COMENTARIOS

La fotoquimioterapia es una opción terapéutica útil en gran cantidad de enfermedades cutáneas, sin embargo, los riesgos a largo plazo debidos a la exposición crónica a la radiación UV, principalmente la fotocarcinogénesis, son motivo de preocupación e investigación en este campo.

Además de ser la principal causa de cáncer de piel no melanoma, la radiación UV es capaz de provocar quemadura, fotoenvejecimiento e inmunosupresión tanto local como sistémica<sup>18</sup>.

Gran parte del daño causado por UVA y PUVA, esta relacionado con su capacidad de producir radicales libres de oxígeno, ya que se han observado productos de la peroxidación de lípidos, radicales lipídicos, radicales de melanina y depleción de antioxidantes en la piel irradiada. Por otra parte, la inflamación producida por la radiación UV, conlleva la migración al sitio irradiado de células como neutrófilos y macrófagos que contribuyen con el daño oxidativo. Todo lo anterior nos lleva a concluir que la radiación UV directa o indirectamente produce estrés oxidativo en la piel<sup>23</sup>.

El ácido ascórbico es un donador de electrones para las reacciones intra y extracelulares. Es capaz de reducir a los radicales superóxido e hidroxilo así como a otros oxidantes, además de regenerar a la vitamina E de su forma radical. En modelos animales y en humanos se ha podido demostrar que la aplicación tópica de ácido ascórbico tiene efecto fotoprotector tanto clínica como histológicamente, sin embargo, esto no se había podido demostrar con



su administración oral, la cual resulta más económica y fácil de administrar a largo plazo. Se han comprobado efectos sobre la DEM con la combinación de vitamina C y vitamina E por vía sistémica en pacientes expuestos a UVB <sup>15,35,38</sup>; además se ha demostrado que aumentando la ingesta de antioxidantes, incluyendo la vitamina C, se pueden disminuir las lesiones clínicas causadas por radiación UV en la piel <sup>32</sup>, pero no existen estudios previos que exploren la presencia o no de un efecto sobre la población celular de la epidermis con la administración sistémica de ácido ascórbico solo o en combinación con otros antioxidantes.

En este estudio se realizó la administración sistémica del antioxidante hidrofílico, ácido ascórbico, a dosis de 2g al día, con la aplicación de PUVA a dosis de 2 veces la DFM y se evaluaron sus efectos como fotoprotector tanto a nivel clínico como celular.

Este estudio muestra que la administración de ácido ascórbico a dosis de 2g al día por una semana previa a la aplicación de PUVA es capaz de reducir en forma significativa la fototoxicidad, constituida por eritema y edema en los pacientes estudiados ( $p=0.008$ ). Esto se puede explicar ya que los radicales libres formados durante el tratamiento con PUVA pueden conducir a peroxidación lipídica de las membranas de las células endoteliales, resultando en vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular y producción de eicosanoides<sup>4</sup>, la actividad antioxidante del ácido ascórbico así como su capacidad para reestablecer a la vitamina E pueden conducir a la inhibición de

la peroxidación lipídica y disminución de la vasodilatación y el edema, clínicamente expresados en la disminución de la fototoxicidad.

Por otra parte, no se observó una disminución en la pigmentación tardía en las zonas irradiadas entre el grupo control y experimental, los cuales presentaron pigmentación con una dosis mínima promedio de 12.43 y 11.18 J/cm<sup>2</sup> en los grupos placebo y experimental respectivamente, lo cual podría significar que es posible administrar ácido ascórbico aún en los casos en los que la pigmentación de la piel es el resultado esperado como en los pacientes con vitiligo.

En cuanto a la infiltración por células cebadas en la dermis superficial, no se encontraron diferencias en ambos grupos de tratamiento, sugiriendo que su presencia no está relacionada con el desarrollo de la reacción fototóxica como se ha mencionado en otros artículos <sup>39,40</sup>.

Uno de los efectos clave para la inmunosupresión provocada por la radiación UV es su efecto sobre las células de Langerhans, ya sea dañándolas directamente o mediante la inducción de citocinas inhibitoras por parte de los queratinocitos<sup>18</sup>. En este estudio, se observó una diferencia en los valores finales de las células de Langerhans entre el grupo control y experimental, de manera que dichas células disminuyeron en una media de 4 células por mm en el grupo control y tan solo disminuyeron en razón de una célula por mm en el grupo experimental, sin embargo, probablemente por el tamaño de la muestra, esta diferencia no resultó estadísticamente significativa (p=0.282).

En cuanto a la producción de “células quemadas”, rasgo distintivo del daño por UVB y UVC; sabemos que la UVA y PUVA producen menor cantidad de células disqueratósicas y que éstas se producen más lentamente, además de que nunca coalescen formando una banda suprabasal, lo que las hace más difíciles de valorar. Las dosis utilizadas en experimentos con animales para lograr la producción de células quemadas han sido de 3 a 4 veces la DEM. Aún así, en nuestro estudio, la cantidad de células quemadas post radiación fue significativamente mayor en el grupo placebo que en el grupo experimental ( $p=0.021$ ). Se sabe que el daño inducido al DNA por PUVA, ya sea a través del psoraleno y su unión al DNA o por la producción de radicales libres, resulta en la formación de “células quemadas”. La disminución significativa de estas células posteriormente a la administración de ácido ascórbico puede deberse en parte a la disminución del daño al DNA por el segundo mecanismo. También se encontró un riesgo 1.2 veces mayor (RR 2.2) de presentar células apoptósicas después de la aplicación de PUVA en los pacientes del grupo control comparados con los del grupo experimental, de manera que la administración de ácido ascórbico es capaz de disminuir el riesgo de presentar apoptosis de queratinocitos en un 63% (RR 0.37%). Sin embargo, debido a que el número de pacientes que se analizaron fue menor al tamaño de la muestra esperado, es necesario realizar estudios con mayor número de pacientes para comprobar estos resultados.

No se encontraron diferencias significativas en cuanto a células proliferativas aún cuando se observaron mayor número de queratinocitos PCNA positivos en

el grupo control que en el experimental. Esto probablemente se deba a que estos cambios se producen en forma tardía (hasta 7 días post exposición) en pacientes irradiados con UVA<sup>9</sup>.

No hubo diferencias significativas en cuanto a la presencia de eventos adversos entre ambos grupos, y en los 9 pacientes que los presentaron, ninguno fue de intensidad considerable como para suspender temporal o definitivamente el tratamiento.

Por todo lo anterior, podemos concluir que, aún cuando la vitamina C es el antioxidante hidrofílico más importante en la piel, también puede ser susceptible a la destrucción por radiación UV, de manera que su administración sistémica puede ser una opción segura y económica para disminuir los efectos clínicos y celulares producidos por PUVA.

Se requieren estudios a largo plazo para evaluar cuidadosamente el beneficio de la administración concomitante de ácido ascórbico y otros antioxidantes en los pacientes de PUVA, sin embargo, es posible formular hipótesis al respecto tomando en cuenta los beneficios potenciales y los escasos efectos adversos de los mismos; esperando una disminución en la fototoxicidad aguda, una mejor respuesta inmune local y sistémica, así como una disminución a largo plazo del riesgo de fotocarinogénesis y fotoenvejecimiento con la administración crónica de los mismos.

## **ANEXO 1**

### **CARTA RESPONSIVA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

México, D.F. a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_.

Yo \_\_\_\_\_

Por medio de la presente, manifiesto:

Que tengo conocimiento respecto a la naturaleza crónica e impredecible de mi enfermedad \_\_\_\_\_, la cual en la mayoría de las ocasiones requiere de tratamiento prolongado con posibilidad de recidivas.

Que se me ha informado sobre el protocolo de estudio que se lleva a cabo para su tratamiento, el cual consiste en fotoquimioterapia con toma de dos biopsias con punch al inicio del tratamiento, y que dicho procedimiento deja cicatriz permanente.

Manifiesto expresamente conocer que las pruebas que se llevarán a cabo durante el protocolo consisten en la ingesta de 8-metoxipsoraleno 2 horas antes de la fotoprueba, la cual se llevará a cabo en 2 ocasiones. Así como la ingesta de ácido ascórbico o placebo, diariamente durante la realización del estudio. Los cuales como efectos pueden producir alteraciones gastrointestinales leves, pudiendo ocasionar reacciones adversas a nivel local o sistémico.

Manifiesto asimismo, bajo protesta de decir verdad, que actualmente no me encuentro embarazada, comprometiéndome a no embarazarme durante el tratamiento.

Con pleno conocimiento de lo anterior acepto voluntariamente y bajo mi más estricta responsabilidad, participar en el estudio "Efecto de la administración de ácido ascórbico sobre el daño agudo por UVA en pacientes con fototerapia". Entiendo que del presente estudio se derivarán beneficios al ampliar los conocimientos sobre el medicamento en cuestión. Y deslindo de cualquier tipo de responsabilidad a la Dra. Norma Cortés Lozano con Cédula Profesional 3568295 por el tratamiento a realizarme.

Asimismo es de mi conocimiento que seré libre de retirarme de la presente investigación en el momento en que yo así lo desee, y de solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en dicho estudio. En caso de que decida retirarme, la atención que como paciente recibo en esta Institución no se verá afectada.

\_\_\_\_\_  
Firma de quien autoriza el procedimiento

\_\_\_\_\_  
Firma de un testigo

## **ANEXO 2**

### **MEDICAMENTOS FOTOSENSIBILIZANTES:**

Tetraciclinas

Ácido nalidíxico

Sulfonamidas

Sulfonilureas

Clordiacepóxido

Griseofulvina

Tiazidas

Fenotiazinas

Antihistamínicos

Antihipnóticos

Psicofármacos

Antisépticos urinarios

Alquitrán de hulla

### ANEXO 3

#### FORMATO DE CAPTURA DE DATOS:

Nombre: \_\_\_\_\_ ID: \_\_\_\_\_ TX: \_\_\_\_\_  
Edad: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

No. Exp. CDP: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_  
Dirección: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_

APP: \_\_\_\_\_

Alérgicos: \_\_\_\_\_

Dx:  Vitiligo  Psoriasis  
Fototipo:  III  IV  
Grupo:  Control  Experimental

Fecha de fototest inicial: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ Biopsia1 No: \_\_\_\_\_  
DEM: \_\_\_\_\_ J/cm<sup>2</sup> 2 DEM \_\_\_\_\_ J/cm<sup>2</sup>  
Fecha de segundo fototest: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ Biopsia2 No: \_\_\_\_\_

RESULTADOS:  
Fototoxicidad aguda 0 Sin eritema 1 Eritema ligero 2 No confluyente 3 4 bordes definidos 4 Edema

	Pre PUVA	Post PUVA
Células de Langerhans:	_____ células / mm	_____ células / mm
Células quemadas:	_____ células / mm	_____ células / mm
Núcleos PCNA positivos:	_____ células / mm	_____ células / mm
Células cebadas:	_____ células / mm <sup>2</sup>	_____ células / mm <sup>2</sup>

#### EVENTOS ADVERSOS:

	Si	No
1.Náusea		
2.Vómito		
3.Dolor abdominal		
4.Diarrea		
5.Cefalea		
6.Prurito		
7.Fatiga		
8.Somnolencia		
9.Cálculos renales		
10.Otros: _____		

#### ADHERENCIA:

#### TABLETAS SOBRANTES:

0-1 buena	
2-4 regular	
>4 mala	

#### OBSERVACIONES:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_





## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Small-Arana O: Fototerapia con rayos ultravioleta. *Dermatol Per* 2002; 12:123-6.
2. Drake L, Ceilley R, Dorner W, et al.: Guidelines of care for phototherapy and photochemotherapy. *J Am Acad Dermatol* 1994; 31:643-8.
3. Paredes A, Sanchez G, Coronado J: Fototerapia con luz ultravioleta B de banda angosta (UVB-NB). *Dermatol Per*, 2002; 12:127-32.
4. Krutmann J: Therapeutic photomedicine. En: Fitzpatrick's dermatology in general Medicine. 5ª Edición. Editorial McGraw-Hill. 1999. pp 2870-9.
5. Hönigsmann H, Szeimies RM, Knobler R, et al: Photochemotherapy and photodynamic therapy. En: Fitzpatrick's dermatology in general Medicine. 5ª Edición. Editorial McGraw-Hill. 1999. pp 2880-900.
6. Valdivia-Blondet L: Fotobiología cutánea, generalidades. *Dermatol Per* 2002; 12:98-103.
7. Honeyman J: Efectos de las radiaciones ultravioleta en la piel. *Dermatol Per* 2002; 12:104-11.
8. Simon JC, Pfiieger D, Schopf E. Recent advances in phototherapy. *Eur J Dermatol* 2000; 10:642-5.
9. Rosario R, Mark GJ, Parrish JA, et al.: Histological changes produced in skin by equally erythemogenic doses of UVA, UVB and UVC and UVA with psoralens. *Br J dermatol* 1979; 101:299-308.
10. Delgado-González C, Delgado-FernandezV, Delgado-González V, et al.: Otras dermatosis tratadas con PUVA. *Dermatol Per* 2002; 12:137-41.
11. Green E, Hakshmiopathi T, Johnson BE, et al: A comparison of the efficiency and relapse rates of narrow band UVB (TL-01) monotherapy vs Etreinato- PUVA (REPUVA) in the treatment of psoriasis patients . *Br J Dermatol* 1992; 127:5-9.
12. Price NM, Constantine VS, Hoppe RT, et al: topical mechlorethamine therapy for mycosis fungoides. *Br J Dermatol* 1977; 97:547-50.
13. Khurshid K, Haroon TS, Hussain et al: Psoralen- ultraviolet A therapy vs Psoralen- ultraviolet B therapy in the treatment of plaque- type psoriasis : our experience with Fitzpatrick skin type IV. *Int J Dermatol* 2000; 39:865-7.
14. McGregor JM, Hawk JLM: Acute effects of ultraviolet radiation on the skin. En: Fitzpatrick's dermatology in general Medicine. 5ª Edición. Editorial McGraw-Hill. 1999. pp 1555-61.
15. Mireles-Rocha H, Galindo I, Huerta M, et al.: UVB photoprotection with antioxidants: effects of oral therapy with d- $\alpha$ -tocopherol and ascorbic acid on the minimal erythema dose. *Acta derm Venereol*, 2002; 82:21-4.

16. De Rios G, Chan JT, Black HS, et al: Systemic protection by antioxidants against UVL-induced erythema. *J Invest Dermatol*, 1978; 70:123-5.
17. Seidl H, Kreimer-Erlacher H, Bäck B, et al: Ultraviolet exposure as the main initiator of p53 mutations in basal cell carcinomas from psoralen and ultraviolet A-treated patients with psoriasis. *J Invest Dermatol*, 2001; 117:365-70.
18. Ullrich S. Modulation of immunity by ultraviolet radiation: Key effects on antigen presentation. *J Invest Dermatol*, 1995; 105(1 Suppl):30S-36S.
19. Horio T, Okamoto H. Oxygen intermediates are involved in ultraviolet radiation-induced damage of Langerhans cells. *J Invest Dermatol*, 1987; 88:699-701.
20. Nogués MR, Giral M, Cervelló I, et al: Parameters related to oxygen free radicals in human skin: a study comparing healthy epidermis and skin cancer tissue. *J Invest Dermatol*, 2002; 119:645-52.
21. Guzman E, Langowski JL, Owen-Schaub L: Mad dogs, Englishmen and apoptosis: The role of cell death in UV-induced skin cancer. *Apoptosis*, 2003; 8:315-25.
22. Duthie MS, Kimber L, Norval M: The effects of ultraviolet radiation on the human immune system. *Br J Dermatol*, 1999; 140:995-1004.
23. Darr D, Fridovich I. Free radicals in cutaneous biology. *J Invest Dermatol*, 1994; 102:671-5.
24. Pelle E, Huang X, Mammone T, et al: Ultraviolet-B-induced oxidative DNA base damage in primary normal human epidermal keratinocytes and inhibition by hydroxyl radical scavenger. *J Invest Dermatol*, 2003; 121:177-83.
25. Young AR, Chadwick CA, Harrison GI, et al: The similarity of action spectra for thymine dimers in human epidermis and erythema suggests that DNA is the chromophore for erythema. *J Invest Dermatol*, 1998; 111: 982-8.
26. Shindo Y, Witt E, Han D, et al.: Enzymic and non enzymic antioxidants in epidermis. *J Invest Dermatol* 1994; 102:122-4.
27. Fuch J, Huflejt ME, Rothfuss LM, et al: Impairment of enzymic and nonenzymic antioxidants in skin by UVB irradiation. *J Invest Dermatol*, 1989; 93:769-73.
28. Keller KL, Fenske NA: Uses of vitamins A,C and E and related compounds in dermatology: A review. *J Am Acad Dermatol* 1998; 39:611-25.

29. Chiu A, Kimball AB: Topical vitamins, minerals and botanical ingredients as modulators of environmental and chronological skin damage. *Br J Dermatol* 2003; 149:681-91.
30. Colven RM, Pinnell SR: Topical vitamin C in aging. *Clin Dermatol* 1996; 14:227-34.
31. Darr D, Combs S, Dunston S, et al.: Topical vitamin C protects porcine skin from ultraviolet radiation-induced damage. *Br J Dermatol* 1992; 127:247-53.
32. Lin Y, Selim MA, Shea Ch, et al.: UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and vitamin E. *J Am Acad Dermatol*, 2003; 48:866-74.
33. Dreher F, Gabard B, Schwindi DA, et al.: Topical melatonin in combination with vitamins E and C protects skin from ultraviolet – induced erythema: a human study in vivo. *Br J Dermatol* 1998; 139:332-9.
34. Murray J, Darr D, Reich J, et al.: Topical vitamin C treatment reduces ultraviolet B radiation – induced erythema in human skin. *J Invest Dermatol* 1991; 96: 587 (Abstract).
35. Eberline-Koning B, Placzek M, Przybilla B. Protective effects against sunburn of combined systemic ascorbic acid (vitamin C) and d-alpha-tocopherol (Vitamin E). *J Am Acad Dermatol*, 1998; 38:45-8.
36. Fuchs J, Kern H. Modulation of UV-light-induced skin inflammation by d-alpha-tocopherol al L-ascorbic acid: a clinical study using solar simulated radiation. *Free Radic Biol Med*, 1998; 25:1006-12.
37. Catani MV, Rossi A, Costanzo A, et al.: Induction of gene expression via activator protein-1 in the ascorbate protection against UV-induced damage. *Biochem J* 2001; 356:77-85.
38. Lazlo K, Fenske N. Uses of vitamins A, C, and E and related compounds in dermatology. A review. *J Am Acad Dermatol*, 1998; 39:611-25.
39. Ikai K, Danno K, Horio T, et al.: Effect of ultraviolet irradiation on mast cell-deficient W/W<sup>v</sup> mice. *J Invest Dermatol*, 1985; 85 :82-4.
40. Middelkamp-Hup MA, Pathak MA, Parrado C, et al.: Orally administered *Polypodium leucotomos* extract decreases psoralen-UVA-induced phototoxicity, pigmentation, and damage of human skin. *J Am Acad Dermatol*, 2004; 50:41-9.