

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

HOSPITAL GENERAL “DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ”

DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA

Identificación inmunohistoquímica de mastocitos en muestras de
tejido de pacientes con prurigo actínico

TESIS DE POSGRADO

Que para obtener el título de especialista en
DERMATOLOGÍA

Presenta:

DRA. EDUWIGES MARTÍNEZ LUNA

Asesora de Tesis:

Dra. Ma. Elisa Vega Memije



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.

Dr . Octavio Sierra Martínez
Director de Enseñanza

Dr. Alfonso Galván Montaña
Director de Investigación
Presidente de las Comisiones de Ética y de Investigación

Dra. Rita Valenzuela Romero
Jefa de la División de Enseñanza de Pregrado y Posgrado

Dr. Luciano Domínguez Soto
Jefe del Departamento de Dermatología

Dra. María Elisa Vega Memije
Asesora de Tesis

*A mi Julia,
gracias por bendecir el resto
de mi vida con tu llegada.*

II. AGRADECIMIENTOS

Mil gracias a los grandes Maestros que conforman el servicio de Dermatología del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”, en especial a la Dra. Ma. Elisa Vega Memije, quien siempre esta presta a brindarnos su experiencia y apoyo.

A mis padres, que son el cimiento y puntos cardinales de mi vida, gracias por darme el cobijo de una familia sin igual, sus consejos, su empuje, por acompañarme siempre, su esfuerzo día a día para hacerme una vida menos difícil y por siempre darme el valor y la confianza para lograr mis objetivos por el simple hecho de llevar los apellidos Martínez Luna.

A mis hermanos por una infancia llena de alegría, por ser guías y ejemplos, por el apoyo que están dispuestos a brindar, por acrecentar nuestra familia y llenarnos de alegría por los nuevos integrantes Carlos y Diego. A Martha por recibirme en su hogar y a Melchor por toda la ayuda.

A mi Abuela Ruperta, gracias por enseñarme con tu vida y conducta ejemplar que nunca hay obstáculos infranqueables en la vida, por los mejores y mas felices momentos de mi vida que pasé en tu casa, por cuidarme y acompañarme siempre; al conocerte tengo la certeza de la divinidad, ya que encajas perfecto en la definición de un ángel.

A mis abuelos Rosa y Ernesto, por todas las noches de cuentos y anécdotas, su lucha y esfuerzo para arrancar a sus hijos del surco, siguen rindiendo frutos.

A Estela, gracias por brindarme tu cariño incondicional, cuidados y tiempo, por conformar parte imprescindible de mi familia.

A Néstor Rafael, por asumir el reto de enfrentar los embates de la vida a mi lado, por confiar en mis decisiones, por estar al pendiente de cada uno de mis pasos, por darme la certeza de que bajo cualquier condición cuento contigo y por nuestro nuevo y gran proyecto de compromiso, unión y responsabilidad: Julia. Fito te amo profundamente.

III. ÍNDICE

I. Dedicatoria	3
II. Agradecimientos	4
III. Índice	5
IV. Introducción	6
V. Marco de referencia	12
VI. Planteamiento del problema	15
VII. Objetivos	16
VIII. Hipótesis	17
IX. Justificación	18
X. Material y métodos	19
XI. Resultados	22
XII. Discusión	25
XIII. Conclusiones	27
XIV. Anexos	28
XV. Bibliografía	31

IV. INTRODUCCIÓN

El prurigo actínico es una fotodermatosis idiopática descrita por Escalona desde 1954, con una prevalencia reportada, que varía entre 3.5 y 5%, representa una patología cutánea desencadenada por las radiaciones lumínicas, con alta incidencia familiar, se presenta en indios americanos y mestizos, especialmente en México, Guatemala, Honduras, Colombia, Perú, Bolivia y, en Estados Unidos de Norteamérica y Canadá en los nativos americanos,^{1,2,3,4} también se han reportado algunos casos aislados en caucásicos.⁵ Generalmente los pacientes habitan poblaciones con altitud superior a 1500 metros sobre el nivel del mar, pero se han descrito poblaciones afectadas que habitan en zonas a nivel del mar o altitudes bajas de 300 a 500 metros, considerando entonces que la parte racial, más que la altitud es la que representa el factor importante para el desarrollo de la enfermedad, que comienza en la niñez, generalmente antes de los 10 años de edad y predomina en sexo femenino con una relación de 2:1 a 4:1.^{1,2,3}

Afecta las regiones fotoexpuestas como mejillas, dorso nasal, frente, mentón, pabellones auriculares, v del escote, caras externas de brazos y antebrazos, dorso de manos, cara anterior de muslos y piernas, bilateral y simétrica, se caracteriza por presentar pápulas eritematosas de 2 a 3 mm, costras hemáticas, confluyendo y formando placas, un síntoma constante es el prurito intenso, por lo que es habitual que las lesiones estén traumatizadas por el rascado crónico, motivo por el cual puede impetiginizarse o presentar eccematización y mostrar vesículas o ampollas, sin ser éstas propias del prurigo actínico.^{2,6}

Se observa conjuntivitis en 45% a 62% de los casos, iniciando con hiperemia conjuntival, fotofobia, lagrimeo, posteriormente una pigmentación marrón de la conjuntiva, hipertrofia de papilas y formación de pseudopterigión.^{1,2,3,6}

Es frecuente también la queilitis predominando en labio inferior, hasta en un 85% de los casos, y como única manifestación de la enfermedad en 27% de los

casos; el espectro de afección va desde labios secos y cubiertos de escama fina y adherente hasta severo eritema, edema, exudación con formación de costas melicericas adherentes, fisuras y ulceración.⁷

La evolución es crónica con algunas remisiones parciales, debido a la cronicidad y prurito intenso, la piel se engruesa, dando lugar a la formación de placas liquenificadas, con costras hemáticas, hiperpigmentación, manchas hipocrómicas, alopecia del vello en extremidades y cejas, siendo mas frecuente observar este aspecto en pacientes adultos.⁶

El diagnóstico diferencial clínico, debe realizarse con dermatitis atópica fotosensibilizada, dermatitis por fotocontacto crónica y con erupción polimorfa lumínica.⁸

Las características histopatológicas en piel son hiperqueratosis con paraqueratosis, acantosis regular, engrosamiento de la lámina basal, en dermis se observa un infiltrado inflamatorio perivascular superficial, compuesto por linfocitos, formando cúmulos.⁹

En las lesiones de labios se muestra hiperqueratosis con paraqueratosis, costras, puede presentarse ulceración del epitelio, acantosis regular, espongirosis, vacuolización de la capa basal, a nivel del corión se observa edema, vasos dilatados y congestivos, y como dato patognomónico la presencia de infiltrado linfoplasmocitario formando folículos linfoides o dispuesto en banda, así como abundantes eosinófilos.^{10,11}

En las biopsias de conjuntiva se observa hiperplasia del epitelio alternando con áreas de atrofia, vacuolización de la capa basal y dilatación de los capilares del corión, el infiltrado inflamatorio se constituye de linfocitos aglomerados formando folículos linfoides, hay eosinófilos, células plasmáticas, e incontinencia del pigmento.⁹ En estudios de inmunohistoquímica se ha demostrado que los

folículos linfoides están constituidos por linfocitos T en la periferia, predominando los CD45RO+/IL-2+ y al centro linfocitos B CD20+, también se identificaron dendrocitos en la vecindad de los folículos linfoides.²⁸

En estudios previos realizados con respecto a la fisiopatogenia destacan las siguientes observaciones:

Existe un fondo de susceptibilidad genética al desarrollo del prurigo actínico, el cual está asociado con alelos de los genes clase I y II del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) en particular con el HLA-DR4 alelos DRB*0403 y DRB1*0407, también se han reportado HLA-A24, HLA-CW4, HLA-CW3, HLA-C4, HLA-B40.^{12,13,14,15,16, 17}

Queda clara, la participación de la radiación ultravioleta en la expresión de la enfermedad, ya que se logra la inducción de lesiones en piel sana no fotoexpuesta en pacientes con prurigo actínico, después de ser irradiados repetidamente con una fuente de luz ultravioleta, siendo las lesiones indistinguibles tanto clínica como histológicamente de las lesiones que aparecen espontáneamente en zonas expuestas a la luz.^{18,19,20, 21, 22}

Las células mononucleares de sangre periférica presentan una significativa respuesta proliferativa, al ser estimuladas con extractos de queratinocitos o piel alogénica, interpretando el fenómeno como una sensibilización inmune contra antígenos cutáneos modificados por la luz ultravioleta, jugando un papel determinante para que los queratinocitos liberen sustancias solubles, mediadoras de la proliferación linfocitaria. Cabe aclarar que en los pacientes con prurigo actínico no se observa incremento en los niveles séricos totales de leucocitos y linfocitos, ya que la estimulación de la proliferación es local por los queratinocitos.^{23,24, 25}

Miyachi y colaboradores estudiaron el papel de los intermediarios reactivos del oxígeno (aniones superóxido, peróxido de hidrógeno e hidroxilos), producidos por polimorfonucleares posterior a la exposición a la luz ultravioleta, los cuales causan fragilidad de las membranas celulares de queratinocitos y formación de peróxidos de lípidos, disminución de la reparación del DNA, produciendo una lesión química en los tejidos sanos y células disqueratóticas.²⁶

Moncada y colaboradores sugieren que el prurigo está relacionado con una respuesta inmune anormal ya que encontró un aumento de linfocitos T séricos totales, así como un predominio de linfocitos T cooperadores (CD4+) y de células Ia+ en el infiltrado dérmico.²⁷

Bernal y colaboradores reportan una disminución de los niveles séricos de linfocitos CD3+ y CD4+ sin modificación de los linfocitos CD8+, en 15 pacientes con prurigo actínico tratados con talidomida, proponiendo como factor etiológico una desregulación de las subpoblaciones de linfocitos.²⁸

Otro dato relevante comunicado por Umaña y colaboradores, es el incremento en la expresión de moléculas de adhesión ELAM-I, ICAM-I y LFA-I, así como un aumento en linfocitos CD4+, linfocitos T memoria (CD45RO), células de Langerhans, IgG e IgM, en las biopsias de pacientes con prurigo actínico, disminuyendo su expresión hasta alcanzar niveles cercanos a la normalidad posterior al tratamiento con ciclosporina A.²⁹ En este mismo estudio destaca la identificación en el infiltrado de células T CD4 cooperadoras además de las T CD45RO de memoria, así como una mayor expresión de IgM e IgG a nivel local.

En un estudio realizado por Arrese et al, en las biopsias de 20 pacientes mexicanos, se observó que el infiltrado inflamatorio se encuentra constituido principalmente por linfocitos T activados Th1 productores de IL-2 en la periferia y el centro de los folículos conformado por linfocitos B CD20+, células plasmáticas productoras de IgM dentro y fuera de los agregados linfoides, a nivel de dermis

superficial así como en la vecindad de los folículos linfoides se detectaron dendrocitos; además los queratinocitos presentaron inmunorreactividad al factor de necrosis tumoral (TNF- α) y calprotectina; fenómeno por el cual la talidomida ejerce una mejoría franca de las lesiones al disminuir los niveles séricos TNF- α a niveles normales, así como los efectos inmunomoduladores al incrementar el número de linfocitos circulantes CD3+/INF γ +.^{30,31}

Los valores de IgE sérica están elevados, reportándose desde el 10% al 50% de los pacientes con prurigo actínico, así como eosinofilia periférica.³²

En los estudios realizados hasta la fecha no se ha establecido que exista producción de autoanticuerpos contra antígenos nucleares, citoplásmicos o epidérmicos conocidos, lo que se ha reportado en algunos estudios es la elevación de IgE en algunos pacientes con prurigo actínico.³³

Se postuló también como factor etiológico una falla en la inducción de la inmunosupresión secundaria a la radiación ultravioleta, desencadenándose una respuesta exagerada frente a neoantígenos producidos en la piel posterior a la irradiación, sin tener resultado favorables que apoyen esta hipótesis.³⁴

Con respecto a la terapéutica del prurigo actínico se han intentado diversas modalidades como fotoquimioterapia con PUVA cuyo mecanismo de acción es formar un filtro epidérmico por medio de la pigmentación y la depleción de mediadores así como linfoxicidad e inmunodepresión.³⁵

En un estudio realizado por Durán et al, se utilizó tetraciclina por su efecto inhibidor de superóxidos y vitamina E como antioxidante, en ocho pacientes en cada grupo observando mejoría en ambos grupos, en las lesiones de queilitis, pápulas, y en menor grado en las placas infiltradas y liquenificación.^{36,37}

La talidomida (N-ftalilmiglutarida) es el tratamiento de elección en el prurigo actínico; desde que fue reportada por Londoño en 1973, ha probado ser especialmente efectiva en el tratamiento de esta fotodermatosis, la dosis varía de 50mg a 200mg al día, observando la mejoría en 2 a 3 semanas, se requiere anticoncepción obligatoria en mujeres en edad fértil por sus efectos teratogénicos y puede presentarse neuropatía periférica en un rango de 0.5 al 70%, sin que este relacionada a la dosis total acumulada, sino a la dosis diaria, siendo mas frecuente en ancianos y mujeres.^{38, 39, 40, 41}

La ciclosporina A, es también un medicamento eficaz para el tratamiento del prurigo actínico, actúa inhibiendo la síntesis de citocinas, incluyendo la IL-2 involucrada en la proliferación de linfocitos T; su desventaja es el elevado costo.^{29,42}

Los esteroides son ampliamente utilizados como tratamiento tópico, con buenos resultados, sin embargo no se recomienda su uso sistémico, debido al curso crónico de la enfermedad y los efectos adversos de su uso a largo plazo.^{42,43}

Es muy importante insistir en que la educación es fundamental para la prevención de las lesiones, instruyendo a los pacientes a protegerse de la radiación ultravioleta con ropa adecuada, uso de sombreros, sombrillas, etc y la aplicación de filtros solares o pantallas diariamente.⁴⁴

V. MARCO DE REFERENCIA

En un estudio realizado por Álvarez y colaboradores (datos aún no publicados) se determinó por medio de inmunohistoquímica, la población celular que conforma el infiltrado inflamatorio nodular en el prurigo actínico, demostrando que se trata de folículos linfoides, con reacción de verdaderos centros germinales, constituidos al centro por linfocitos CD20+, la periferia linfocitos CD3+/CD4 + y CD8+, con un área de linfocitos B proliferantes, así como presencia de células dendríticas foliculares, eosinófilos y células plasmáticas productoras de IgE, así como la producción de IL-2 por linfocitos B y T.⁴⁵

Destacando de estos datos, la producción in situ por las células plasmáticas de IgE, el aumento sérico de IgE en algunos de los pacientes y la presencia de eosinófilos en el infiltrado inflamatorio, lo cual en conjunto orienta a la producción de una reacción de hipersensibilidad, la cual consiste en exposición de un antígeno, activación de los linfocitos Th2 específicos para ese antígeno, síntesis de anticuerpos IgE, unión de éstos con los receptores Fc de los mastocitos y activación de los mastocitos debido a la reexposición al antígeno, lo que da lugar a la liberación de mediadores de los mastocitos y la consiguiente reacción patológica. En el prurigo actínico esto se llevaría a cabo en respuesta a la exposición solar y a un alérgeno aun no identificado, lo que promovería la formación de centros germinales ectópicos, característicos en la histología del prurigo actínico; estos centros germinales ectópicos se han documentado en otras enfermedades con una reacción de hipersensibilidad de base.

Los centros germinales ectópicos han sido reportados en enfermedades autoinmunes e infecciones crónicas, además se ha logrado inducir la formación de centros germinales ectópicos productores de IgE en ratones con asma, una enfermedad típicamente causada por una reacción de hipersensibilidad.⁴⁶

Los mastocitos son derivados de progenitores hematopoyéticos, en condiciones normales no existen mastocitos circulando en sangre y linfáticos, los progenitores migran a los tejidos periféricos en forma de células inmaduras y se diferencian in situ en la mayoría de los tejidos, especialmente los tejidos expuestos al ambiente externo, bajo los epitelios;⁴⁷ la expansión y maduración de los precursores de los mastocitos está influenciado por varias citocinas como IL-4, IL-9 y factor de crecimiento nervioso (NGF), sin embargo la principal influencia para su diferenciación y supervivencia es el Factor de célula pluripotencial (stem cell) SCF unido a su receptor c-Kit.^{47,48} Estas células tienen un papel muy importante en las reacciones inflamatorias y alérgicas, los alérgenos suelen ser proteínas y sustancias químicas habituales en el medio ambiente a las que la persona atópica se encuentra expuesta de manera crónica, así como respuesta inicial a patógenos bacterianos y parasitarios; su activación es desencadenada por diversos mecanismos, anafilotoxinas generadas por activación de la vía del complemento, las bacterias a través de receptores Toll-like, así como el TNF- α liberado por otros mastocitos amplificando el estímulo, también se ha reportado la estimulación por linfocitos T sin aclarar aún el mecanismo, la principal vía de activación es por medio del receptor de alta afinidad para IgE (Fc ϵ RI) con el cual puede unirse al complejo IgE-antígeno, iniciando un proceso complejo de transducción de señales que culmina en la secreción de mediadores proinflamatorios y citocinas.^{48,49,50,51}

Las reacciones de hipersensibilidad se dividen en dos fases, una reacción de hipersensibilidad inmediata la cual ocurre dentro de la primera hora a la exposición del alérgeno, originada por el complejo alérgeno-IgE unido al receptor de alta afinidad Fc ϵ RI del mastocito, siendo esta la célula efectora principal de la reacción de hipersensibilidad inmediata, al liberar gránulos con histamina, proteasas neutras como la triptasa y quimasa que contribuyen a las lesiones hísticas de las reacciones de hipersensibilidad inmediata, además la presencia de triptasa en los tejidos, que al ser específica es un marcador de la activación de los mastocitos, otras enzimas son la carboxipeptidasa A y la catepsina G, ya activados se echa andar la síntesis de novo de metabolitos del ácido araquidónico

(prostaglandina D2, factor activador plaquetario, leucotrienos C4, D4 y E4. La fase tardía tiene lugar en las siguientes 12 a 24 horas, se caracteriza por la síntesis de diversas citocinas (TNF- α , IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13), cuyo objetivo es la inflamación y el reclutamiento de linfocitos T, eosinófilos y macrófagos al sitio de la inflamación alérgica;⁵² la reacción tardía puede ocurrir sin una reacción de hipersensibilidad inmediata previa identificable, el asma y el eccema son enfermedades en las que existe una inflamación crónica con eosinófilos y linfocitos sin las alteraciones vasculares de la respuesta inmediata.⁵³

En un estudio realizado para determinar el número de mastocitos presentes en piel normal, con el propósito de diferenciar incrementos en número anormales, se encontró mayor concentración en áreas acrales, no se determinaron a nivel de cara, considerando como dentro de la normalidad un nivel de 75 mastocitos/mm², en reportes previos se menciona entre 44 y 50 mastocitos/mm², se cree que su distribución irregular en el cuerpo sea resultado de diferencias funcionales, ambientales y hemodinámicas, sin estar relacionadas a variaciones en la exposición de la luz ultravioleta de las diferentes partes del cuerpo.⁵⁴

VI. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los actores principales en la hipersensibilidad tipo I son IgE, eosinófilos y mastocitos. En el prurigo actínico se encuentran eosinófilos e IgE local aumentados. ¿Se encontrará también un aumento de mastocitos en el tejido afectado, que sustente una reacción de hipersensibilidad como desencadenante?

VII. OBJETIVOS

Principal:

Determinar la cantidad de mastocitos en tejido afectado de pacientes con prurigo actínico.

Secundarios:

Determinar de manera indirecta si detrás de la fisiopatología del prurigo actínico está una reacción de hipersensibilidad.

Correlacionar el número de mastocitos con el número de eosinófilos presentes en los tejidos de pacientes con prurigo actínico.

VIII. HIPÓTESIS

Si los eosinófilos, inmunoglobulina E y mastocitos ocasionan la reacción de hipersensibilidad, y en el Prurigo actínico se encuentran eosinófilos e inmunoglobulina E aumentados en el infiltrado inflamatorio, entonces los mastocitos también estarán aumentados en el Prurigo Actínico.

IX. JUSTIFICACIÓN

El prurigo actínico es una fotodermatosis, que afecta principalmente a población mestiza, principal componente de la población mexicana. Su evolución es crónica, con aparición de lesiones secundarias a la exposición solar, produciendo prurito intenso, ocasionando disminución importante de la calidad de vida de los pacientes afectados.

El prurigo actínico es una enfermedad que por los aspectos, aún no bien definidos acerca de su fisiopatología, mantiene un reto a resolver. Se requieren aclarar los mecanismos de producción de las lesiones, las células efectoras y las sustancias de inflamación que se producen como citocinas, prostaglandinas, etcétera, con el fin de encontrar un mecanismo para evitar, en bien del paciente, estos procesos patológicos. Por lo que resulta primordial dilucidar la presencia o ausencia de mastocitos en el tejido afectado de pacientes con prurigo actínico, y de esta forma apoyar o descartar un trasfondo de reacción de hipersensibilidad hacia algún alérgeno como causal y promotor de formación de los centros germinales.

X. MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio clínico, descriptivo, abierto, observacional, prolectivo y transversal realizado en el Departamento de Dermatopatología del Hospital General Dr. Manuel Gea González. Se realizó búsqueda de los archivos de pacientes con criterios clínicos e histológicos de prurigo actínico que acudieron a consulta en el periodo comprendido de 1995-2006, durante el cual se realizaron un total de 217 biopsias con diagnóstico histológico de prurigo actínico, de estas se seleccionaron 66 bloques de parafina con material histológico adecuado y suficiente, 9 de conjuntiva y 59 de labio, el resto se excluyeron por: material en malas condiciones, ya sea que no se encontró tejido en el bloque de parafina y por diagnóstico descriptivo. Los 66 bloques provenían de 63 pacientes (Tabla 1).

Además se seleccionaron ocho bloques de parafina de biopsias de mucosa de pacientes como controles positivos para comparar el número de mastocitos presentes (Tabla 2).

Tabla 1. Características demográficas. Casos

63 pacientes	Mujeres:40 Hombres:23 Relación: 1.7:1
Edad	Media: 26.7 años (7-63 años)
Edad inicio	Media: 14.35 años (2-44 años)
Tiempo de evolución	Media: 11.7 años (4 meses-45años)
Antecedente familiar	36.3%
Presentación Clínica	Queilitis 34%
	Dermatitis/Conjuntivitis/Queilitis 60%
	Conjuntivitis/Dermatitis 6%

Tabla 2. Características Controles.

Mucosa sana	Hombre 30 años
-------------	----------------

Extravasación mucosa	Mujer	10 años
Mucocele	Mujer	3 años
Lago venoso	Mujer	40 años
Hiperplasia fibrosa	Mujer	63 años
Queilitis traumática	Hombre	83 años
Liquen escleroso	Mujer	32 años
Queilitis granulomatosa	Mujer	66 años

Se realizó la siguiente técnica de inmunohistoquímica. Posterior a la desparafinización y rehidratación, los tejidos fueron tratados con 1ml de citrato de sodio 0.1% pH 6.2 para la recuperación antigénica; posteriormente se inactivó la acción de peroxidasa endógena por medio de peróxido de hidrógeno 0.9% por 5 minutos, para la eliminación de sitios de unión inespecífica las muestras se sumergieron en albúmina sérica bovina 1% en solución buffer (PBS) por 5 minutos, posteriormente se realizó incubación con el anticuerpo mast cell tryptase® (clona AA1, Dako Corporation. USA), dilución 1:50. Posteriormente las muestras fueron incubadas con el anticuerpo antimouse/antirabbit y con el complejo Streptavidine/peroxidasa por 30 minutos. Para visualizar la reacción se utilizó 3-3'-deaminobencidine-H₂O₂ ® (Dako Corporation. USA). Subsecuentemente las muestras fueron contrateñidas con solución Mayer de hematoxilina. Como control negativo se utilizó PBS, sustituyendo al anticuerpo primario.

Se realizó la identificación de mastocitos, considerando positivos los de color marrón claro a oscuro, que estuvieran delimitados por una membrana y presencia de núcleo (fig. 1) se contabilizaron los mastocitos por medio de microfotografías de forma aleatoria en tres diferentes campos del corte a un aumento de 40x, se tomó como valor final el promedio de los tres campos (fig. 2).⁵⁵

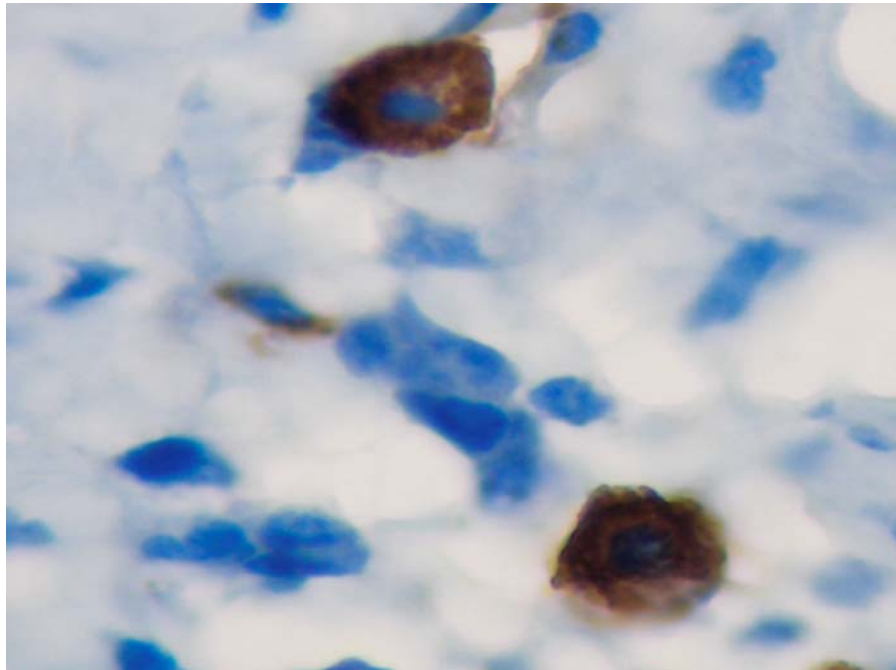


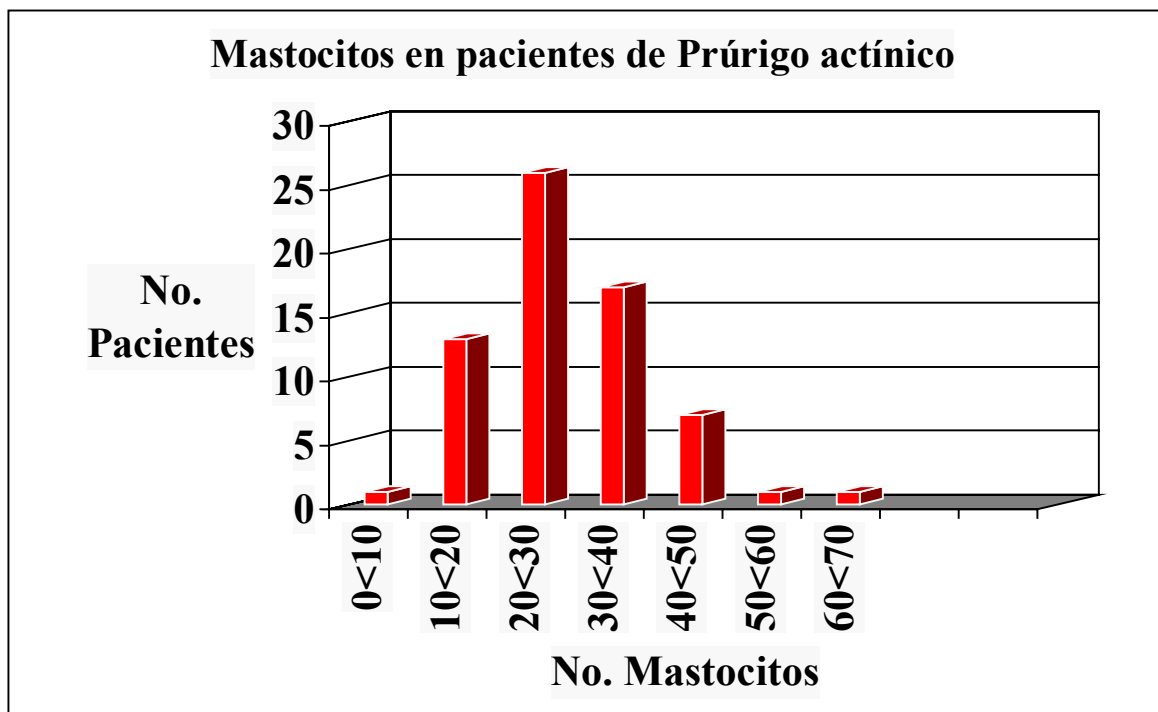
Fig.1 Tinción de inmunohistoquímica positiva, con pigmento marrón contenido por membrana y presencia de núcleo

3		3(24)	2(31)	2(39)
7(10)	2(16)	1(25)	3(34)	2(40)
2(12)	2(18)	1(26)	3(37)	1(41)
2(14)	3(21)	3(29)		2(43)

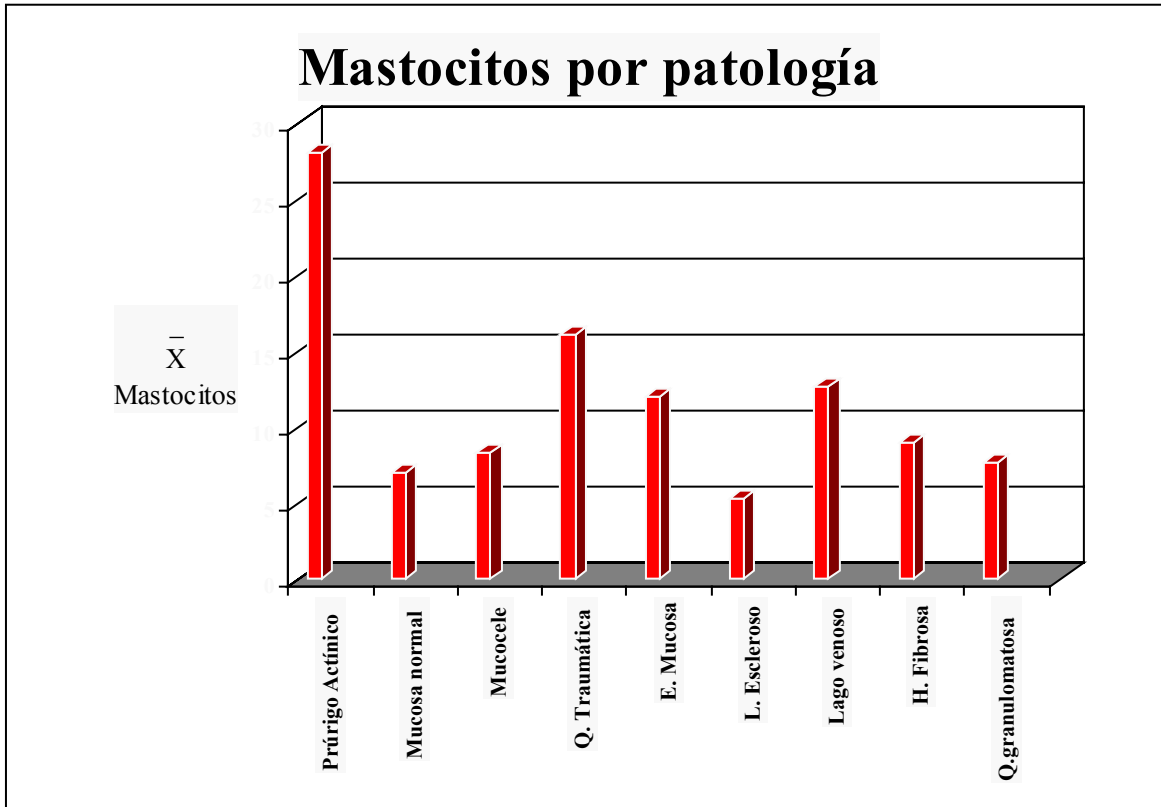
Fig.2 Gráfica cuadriculada para conteo de mastocitos

XI. RESULTADOS

Se encontró que el promedio de mastocitos en la mucosa de pacientes con prurigo actínico fue de 28.48 mastocitos/campo, con un rango de 0 a 66 mastocitos/campo (gráfica 1), contra los controles con un promedio de 9.75 mastocitos/campo, con un rango de 5 a 16 mastocitos/campo, en mucosa sana se registro un promedio de 7 mastocitos por campo (fig. 3). Aplicando la prueba estadística de Kruskal-Wallis se obtuvo un valor de $p=0.001$ (gráfica 2).



Gráfica 1. Se observa una concentración de datos en la escala de 10 a 40 mastocitos por campo.



Gráfica 2. Comparación de los valores promedio de los mastocitos/campo, en las diferentes patologías, observando un mayor número en las queilitis de prurigo actínico.

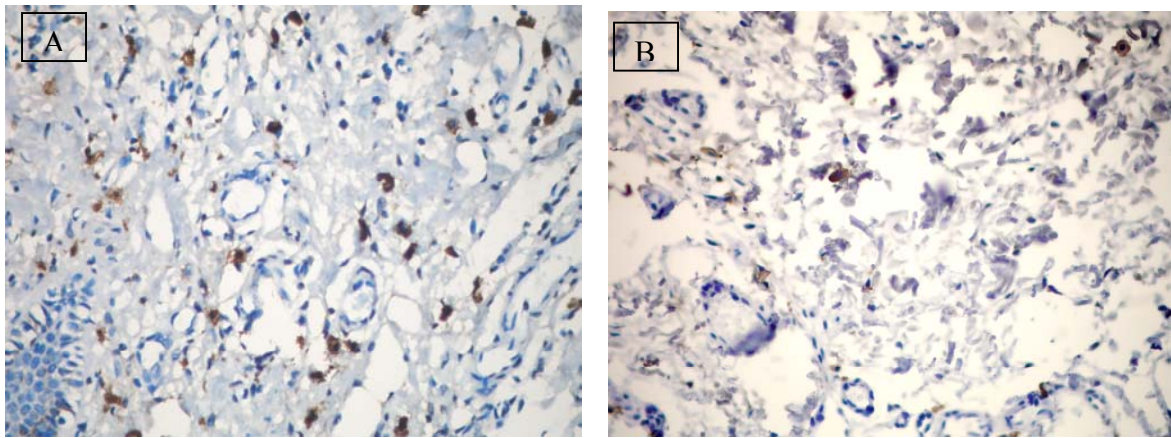
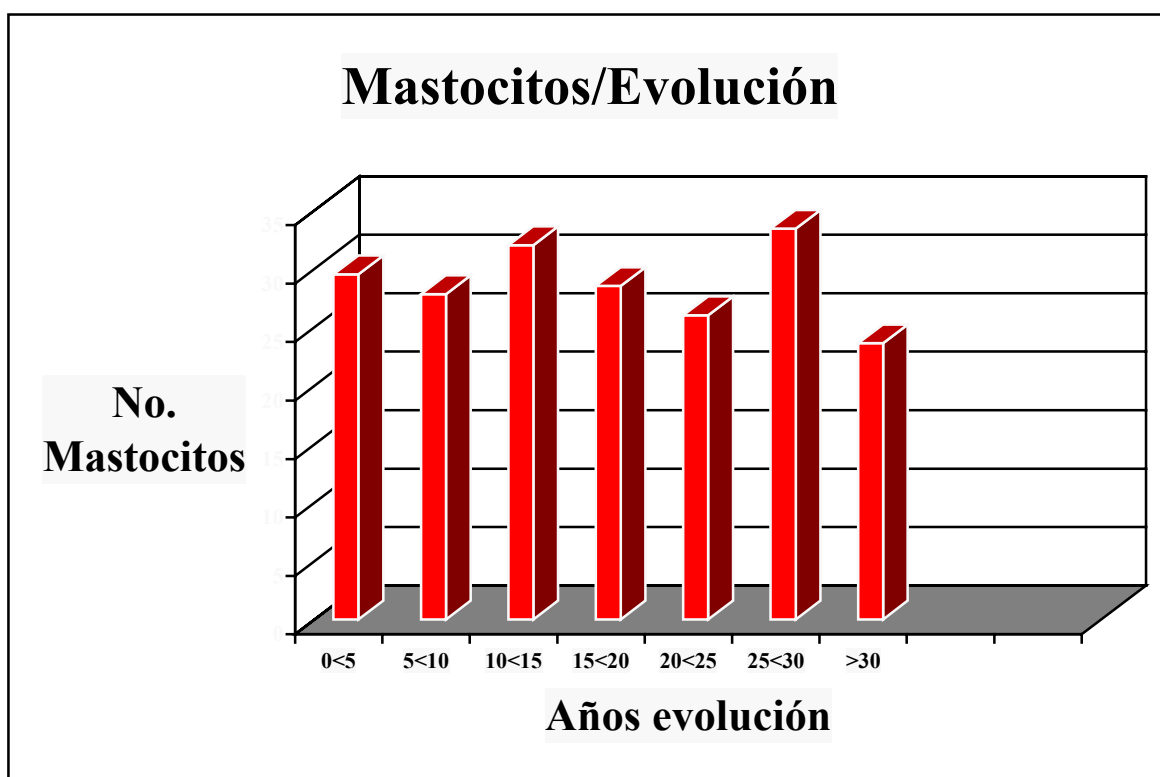


Fig. 3 Tinción inmunohistoquímica antitriptasa de Mastocito 40x. A Queilitis del prurigo actínico. B Mucosa sana. Se observa una clara diferencia en la densidad de mastocitos en los distintos cortes

Se observaron las variaciones en el número de mastocitos/campo de acuerdo al tiempo de evolución, registrando valores promedio de mastocitos/campo similares, independiente del tiempo de evolución (Gráfica 3). El calculo del coeficiente de correlación lineal de Pearson reveló que no existe una relación lineal entre el número de mastocitos por campo y el tiempo de evolución.

Con respecto a la correlación entre el número de mastocitos/campo y el número de eosinófilos/campo los hallazgos obtenidos por medio del calculo del coeficiente de correlación lineal de Pearson fueron que entre ambas variables, no existe relación lineal.



Gráfica 3. De acuerdo al tiempo de evolución no existen variaciones en el número de mastocitos por campo.

X. DISCUSIÓN

En este estudio las muestras obtenidas fueron en mayor cantidad de pacientes de género femenino, con una relación de 1.7:1, así como edad de inicio temprana durante la primera a segunda décadas de la vida, 36.3% de los pacientes contaban con antecedente familiar de prurigo actínico, con respecto a la presentación clínica, la queilitis actínica aislada se observó en 34% mayor que la reportada en la literatura del 27%, pero esto se explica porque se estudiaron mayor número de muestras de labio, que son por su histología las mas representativas.^{6,7,9,10,11}

Con respecto a los controles, se eligieron diversas patologías tumorales e inflamatorias, así como mucosa sana, con el objetivo de comparar la cantidad de mastocitos presentes incluso en enfermedades con un trasfondo de reacción inmunológica.

Tomando de referencia el estudio de conteo de mastocitos/mm² en piel sana y haciendo la correlación con los resultados obtenidos a un aumento de 40x que abarca una superficie de 0.3mm, se observa una mayor cantidad de mastocitos en los pacientes de prurigo actínico 189 mastocitos/mm² contra 75 mastocitos/mm², sin embargo se tiene que considerar que las muestras en nuestro estudio provienen de mucosa en la cual se observa una mayor densidad de mastocitos y que el estudio fue realizado en piel.⁵⁴

Indudablemente se observó una mayor densidad de mastocitos por campo en las muestras de mucosa de pacientes con prurigo actínico con respecto a la mucosa sana y otras patologías incluyendo a las de origen inflamatorio, lo que da lugar a inferir la importancia que tienen estas células en la fisiopatología de la enfermedad y aunado a la presencia en el infiltrado inflamatorio de eosinófilos, los cuales en condiciones normales no se encuentran en los tejidos, la producción local por células plasmáticas de IgE, así como la formación de verdaderos centros

germinales ectópicos, todo conduce a que detrás de la fisiopatogénia del prurigo actínico se encuentra una reacción de hipersensibilidad inmediata, cuyas manifestaciones clínicas serían ocasionadas principalmente por el componente de la reacción tardía.⁵³

En referencia a la cantidad de mastocitos de acuerdo al tiempo de evolución, en este estudio no se demuestra que las variables tenga relación, así como la cantidad de mastocitos y eosinófilos.

Ahora bien, existe un punto de controversia ya que en estudios previos se ha observado que en el prurigo actínico existe un predominio de respuesta de linocitos Th1 y en la reacción de hipersensibilidad inmediata se establece un predominio en la respuesta Th2, esto podría explicarse porque se habla de un predominio en las respuesta Th1 ó Th2, sin embargo en los procesos biológicos invariablemente actúan ambas respuestas.^{24, 27,29, 30}

Considerando que la población mexicana básicamente está constituida por mestizos, los cuales tienen una prevalencia estimada de HLA-DR4 del 25%, además de nuestra latitud en el ecuador, lo que nos hace recibir una radiación ultravioleta considerable, nos hace altamente susceptibles a padecer prurigo actínico, sin embargo este solo se presenta del 3 al 5% de la población, lo que supone otros factores desencadenantes, aun no identificados.⁵⁶

En un estudio previo acerca de la identificación de los factores de riesgo en prurigo actínico se determinaron como principales factores de riesgo la exposición a humo de leña y aves de corral, lo que va de acuerdo a los hallazgos del presente estudio acerca de la fisiopatogénia de una reacción de hipersensibilidad inmediata.⁵⁷

XIII. CONCLUSIONES

Los hallazgos de una mayor densidad de mastocitos en las muestras de pacientes con prurigo actínico, aunado a los estudios previos, confirman la presencia de todos los elementos principales involucrados en la reacción de hipersensibilidad inmediata, lo que nos obliga a interrogarnos acerca del posible alérgeno desencadenante.

El prurigo actínico continua siendo un amplio campo a futuras investigaciones, se requiere clarificar e identificar el potencial alérgeno desencadenante de la reacción de hipersensibilidad inmediata, además de esclarecer la controversia acerca del predominio de las respuestas Th1 y/o Th2 implicadas respectivamente en el prurigo actínico y la reacción de hipersensibilidad inmediata.

XIV. ANEXOS

HOJA DE CAPTURA DE DATOS

Fecha consulta: _____

Iniciales del paciente: _____

Expediente: _____

No. Biopsia _____

Teléfono: _____

I. Demográficos:

Edad: _____

Sexo: _____

Originario: _____

Residente: _____

Ocupación: _____

II. Características de la enfermedad

Sitio principal afectado: _____

Tiempo de evolución: _____

Edad de inicio: _____

Antecedente familiar: _____

Tratamiento actual: _____ Sitio biopsia: _____

III. Cuenta de Mastocitos/campo

1. _____ 2. _____ 3. _____

IV. Cuenta de eosinófilos/campo

1. _____ 2. _____ 3. _____

Calculo de tamaño de muestra

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 p q}{T^2}$$

$$n = \frac{(1.96^2) (0.8) (0.2)}{0.1^2} = \frac{0.614656}{0.01} = 61.46$$

Z_{α} ajustada para que la p significativamente estadística sea de 0.05 es igual a 1.96

p = representa grupo en estudio, la frecuencia en que se ha encontrado producción de IgE y eosinófilos en los tejidos de pacientes con prurigo actínico

q = 1-p

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
mastocitos	28.47	11.03	66
evolución	19.72	27.61	66

Correlations

		mastocitos	evolución
mastocitos	Pearson Correlation	1.000	.036
	Sig. (2-tailed)	.	.777
	Sum of Squares and Cross-products	7902.439	704.283
	Covariance	121.576	10.835
	N	66	66
evolución	Pearson Correlation	.036	1.000
	Sig. (2-tailed)	.777	.
	Sum of Squares and Cross-products	704.283	49541.792
	Covariance	10.835	762.181
	N	66	66

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
mastocitos	28.47	11.03	66
eusinoofilos	9.38	5.75	66

Correlations

		mastocitos	eusinoofilos
mastocitos	Pearson Correlation	1.000	.055
	Sig. (2-tailed)	.	.659
	Sum of Squares and Cross-products	7902.439	228.258
	Covariance	121.576	3.512
	N	66	66
eusinoofilos	Pearson Correlation	.055	1.000
	Sig. (2-tailed)	.659	.
	Sum of Squares and Cross-products	228.258	2147.530
	Covariance	3.512	33.039
	N	66	66

XIV. BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Domínguez-Soto L. Prurigo Actínico. Historia y situación actual. Dermatología Rev Mex 1993; 37 (supl 1):292.
- 2.- Novales J. Prurigo Actínico. Características clínicas. Dermatología Rev Mex 1993; 37 (supl 1):293-294.
- 3.- Magaña-García M. Prurigo actínico. Dermatología Rev Mex 1991;XXXV (3):173-180.
- 4.- Lane P. Prurigo actínico los indígenas americanos. Dermatología Rev Mex 1993;37(supl 1):319.
- 5.- Batard M, Bonneville A, Ségard M, Danzé PM, Thomas P. Caucasian actinic prurigo: 8 cases observed in France. Br J Dermatol. 2001;144:194-196.
- 6.-Hojyo-Tomoka T, Vega-Memije E, Granados J, Flores O, Cortés-Franco R, Teixeira F, Domínguez- Soto L. Actinic Prurigo: An update. Int J Dermatol. 1995;34:380-384.
- 7.- Vega-Memije ME, Mosqueda-Taylor A, Irigoyen-Camacho ME, Hojyo-Tomoka MT, Domínguez-Soto L. Actinic prurigo cheilitis: Clinicopathologic analysis and therapeutic results in 116 casos. Oral surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol and Endodontics. 2002;94:83-91.
- 8.- Hojyo-Tomoka MT. Prurigo Actínico. Diagnóstico diferencial. Dermatología Rev Mex 1993; 37 (supl 1):303.
- 9.- Vega-Memije ME. Características histopatológicas de Prurigo Actínico. Dermatología Rev Mex 1993; 37 (supl 1):295-297.

- 10.- Vega-Memije ME, Ortega-Estrada S, Hojyo-Tomoka M, Reyes-Castro M. Queilitis. Correlación clínico-patológica. *Dermatología Rev Mex* 1991;XXXV (4):212-217.
- 11.- Herrera-Geopfert R, Magaña M. Follicular Cheilitis. A distinctive histopathologic finding in actinic prurigo. *Am J Dermatopathol* 1995;17(4):357-361.
- 12.- Granados J, Domínguez-Soto L. Inmunogenética del Prurigo Actínico en mexicanos. *Dermatología Rev Mex* 1993; 37 (supl 1):314-315.
- 13.- Dawe R, Collins P, Ferguson J. Actinic prurigo and HLA-DR4. *J Invest Dermatol* 1997:233-234.
- 14.- Hojyo-Tomoka T, Granados J, Vargas-Alarcón G, Yamamoto-Furuscho JK, Vega-Memije E, Cortés-Franco R, Flores O, Texeira F, Domínguez-Soto L. Further evidence of the role of HLA-DR4 in the genetic susceptibility to actinic prurigo. *J Am Acad Dermatol*. 2001;44:952-956.
- 15.- Wiseman MC, Orr P, MacDonald SM, Schroeder ML, Toole JW: Actinic prurigo: clinical features and HLA associations in a Canadian Inuit population. *J Am Acad Dermatol*. 2001;44:952-956.
- 16.- Ménagé H du P, Vaughan RW, Baker CS et al. HLA-DR4 may determine expression of actinic prurigo in British patients. *J Invest Dermatol* 1996;106:362-364.
- 17.- Durán MM. Prurigo Actínico. Estudios de HLA. Antígenos de linfocitos humanos. Respuesta inmune celular. *Dermatología Rev Mex* 1993; 37 (supl 1):316-317.

18.- Hojyo-Tomoka MT, Domínguez L, Magaña M. Phototesting in actinic prurigo. In: Volume of abstracts I, 17th World Congress of Dermatology, Berlín, 1987:305-306.

19.- Hojyo-Tomoka MT. Pruebas fotobiológicas en Prurigo Actínico. Dermatología Rev Mex 1993; 37 (supl 1):328.

20.- Jonson J, Fusaro R. Fotosensibilidad en indios americanos. Dermatología Rev Mex 1993; 37 (supl 1):326-327.

21.-McGregor J, Grabczynska S, Vaughan R, Hawk J, Lewis C. Genetic modeling of abnormal photosensitivity in families with polymorphic light eruption and actinic prurigo. J Invest Dermatol 2000;115:471-476.

22.- Epstein J. La fotobiología del prurigo actínico. Dermatología Rev Mex 1993; 37 (supl 1):321-324.

23.- Ávalos E, Ramírez R, Vega-Memije E, Hojyo-Tomoka M, Domínguez-Soto L, López E, Herrera R. ¿Es la luz ultravioleta el factor que desencadena la proliferación linfocitaria en la piel de los pacientes con Prurigo Actínico? Dermatología Rev Mex 1993; 37 (supl 1):308-311.

24.- Ávalos E, Ramírez R, Presno M, Vega-Memije E, Hojyo-Tomoka MT, Domínguez-Soto L, Alvarado E, López A, Pérez O, Herrera R. Subpoblaciones de linfocitos T en pacientes con Prurigo Actínico. Dermatología Rev Mex 1993; 37 (supl 1):305-307.

25.- Miyachi Y. Reactive oxygen species in photodermatology. Photochemistry and Photobiology 1987;46:213-221.

26.- Moncada B. Erupción polimorfa lumínica/Prurigo actínico. Inmunopatología. Dermatología Rev Mex 1993; 37 (supl 1):320.

27.- Moncada B, González-Amaro R, Baranda ML, Loredo C, Urbina R. Immunopathology of polymorphous light eruption. T lymphocytes in blood and skin. J Am Acad Dermatol 1984;10:970-973.

28.- Bernal JE, Duran MM, London F, Umaña A. Cellular immune effects of thalidomide in actinic prurigo. Int J Dermatol 1992;31:599-600.

29.- Umaña A, Gómez A, Durán MM, Porras L. Lymphocyte subtypes and adhesion molecules in actinic prurigo: observations with cyclosporin A. Int J Dermatol. 2002;41:139-145.

30.- Arrese J, Domínguez-Soto L, Hojyo-Tomoka T, Vega-Memije E, Cortés-Franco R, Guevara E, Piérard G. Effectors of inflammation in actinic prurigo. J Am Acad Dermatol 2001;44:957-961.

31.- Estrada-G I, Garibay-Escobar A, Nuñez-Vázquez A, Hojyo-Tomoka T, Vega-Memije E, Cortés-Franco R, Pérez-Urbe A, Flores-Romo L, Santos-Argumedo L, Estrada-Parra S, Domínguez-Soto L. Evidence that thalidomide modifies the immune response of patients suffering from actinic prurigo. Int J Dermatol. 2004;43:893-897.

32.- Pizzi N. Aspectos menos conocidos del Prurigo actínico. Dermatología Rev Mex 1993;37 (supl 1):298.

33.- Herrera R, Vega-Memije E, Hojyo-Tomoka T, Domínguez-Soto L, Herrera R, López E, Villalobos R, Ávalos E. En búsqueda de autoanticuerpos en pacientes con Prurigo Actínico. Dermatología Rev Mex 1993; 37 (supl 1):312-313.

- 34.- Londoño F, DeFabo E. Papel del ácido urocánico en el prurigo actínico. *Dermatología Rev Mex* 1993;37 (supl 1):318.
- 35.- Corrales H. Fotoquimioterapia con psoraleno oral (PUVA) en Prurigo actínico. *Dermatología Rev Mex* 1993; 37 (supl 1):331-332.
- 36.- Durán MM, Ordóñez C, Prieto J, Bernal J. Manejo del Prurigo Actínico en indígenas Chimila. *Dermatología Rev Mex* 1993; 37 (supl 1):333-334.
- 37.- Durán M, Ordoñez C, Prieto J, Bernal J. Treatment of a actinic prurigo in Chimila indians. *Int J Dermatol* 1996;35:413-416.
- 38.- Flores O. Prurigo solar de altiplanicie: tratamiento con Talidomida. *Dermatología Rev Mex* 1993; 37 (supl 1):337-338.
- 39.-Vega-Memije ME, Hojyo-Tomoka MT, Domínguez.Soto L. Tratamiento del prurigo actínico con Talidomida. Estudio en 30 pacientes. *Dermatología Rev Mex* 1993; 37 (supl 1):342-343.
- 40.- Wu J, Huang D, Pang K, Hsu S, Tyring S. Thalidomide: dermatological indications, mechanisms of action and side-effects. *Br J Dermatol* 2005;153:254-273.
- 41.- Holzer A, Wolf P, Legat F, Kerl H, Hofer A. Successful treatment of a female Caucasian patient suffering from hereditary actinic prurigo with thalidomide. *J Deutsch Dermatol.* 2006;4(11):961-964.
- 42.- Epstein J. Tratamiento del Prurigo Actínico. *Dermatología Rev Mex* 1993; 37 (supl 1):335.

43.- Lane P. Manejo del Prurigo Actínico con clobetasol. *Dermatología Rev Mex* 1993; 37 (supl 1):341.

44.- Fusaro R, Jonson J. Prevención y tratamiento del Prurigo Actínico. *Dermatología Rev Mex* 1993; 37 (supl 1):339-340.

45.-Álvarez B. *Presencia de centros de maduración de linfocitos B en la piel de los pacientes con Prurigo actínico. (Datos no publicados).*

46.- Chvatchko Y, Kosco-Vilbois M, Herren S, Lefot J, Bonnefoy J. Germinal center formation and local immunoglobulin E (IgE) production in the lung after an airway antigenic challenge. *J Exp Med* 1996;84:2353-2360.

47.- Benoist C, Mathis D. Mast cells in autoimmune disease. *Nature* 2002;420:875-878.

48.- Miyazaki D, Nakamura T, Toda M, Cheung-Chau K, Richardson R, Jeremy S. Macrophage inflammatory protein-1 α as a costimulatory signal for mast cell-mediated immediate hypersensitivity reactions. *J Clin Invest.* 2005;115(2):434-442.

49.- Fisher M, Harvima L, Carvalho R, Möller C, Naukkarinen A, Enblad G, Nilsson G. Mast cell CD30 ligand is upregulated in cutaneous inflammation and mediates degranulation-independent chemokine secretion. *J Clin Invest* 2006;116(10):2748-2756.

50.- Atkins A, Matteson E, Myers J, Ryu J, Bongartz T. Morphological and quantitative assessment of mast cells in rheumatoid arthritis associated non-specific interstitial pneumonia and usual interstitial pneumonia. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:677-680.

51.- Kanbe N, Tanaka A, Kanbe M, Itakura A, Kurosawa M, Matsuda H. Human mast cells produce matrix metalloproteinase 9. *Eur J Immunol.*1999;29:2645-2649.

52.- Yu M, Tsai M, Tam S, Jones C, Zehnder J, Galli S. Mast cells can promote the development of múltiples features of chronic asthma in mice. *J Clin Invest.* 2006; 116(6):1633-1641.

53.- Abbas A, Lichtman A. *Cellular and Molecular Immunology* 5ta ed. Elsevier 2004. Cap 19:432-452.

54.-Janssens A, Heide R, Hollander J, Mulder P Tank B, Oranje A. Mast cell distribution in normal adult skin. *J Clin Pathol* 2005;58:285-289.

55.- Bologna-Molina R, Mosqueda-Taylor A. *Oral Oncology* (En prensa).

56.- Arnaiz-Villena A, Vargas-Alarcón G, Granados J, Gómez-Casado E, Longas J, Gonzales-Hevilla M, Zuñiga J, Salgado N, Hernández-Pacheco G, Guillen J, Martinez-Laso J. HLA genes in Mexican Mazatecans, the peopling of the Americas and the uniqueness of Amerindians. *Tissue Antigens* 2000;56(5):405-16.

57.- Vera-Izaguirre D, Vega-Memije M. Identificación de factores de riesgo en Prurigo actínico. *J Am Acad Dermatol* (En prensa).