

Estudios fotobiológicos en el *Hydroa vacciniforme*

Mario Lecha Carralero

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSIDAD DE BARCELONA

**SECRETARIADO DE PUBLICACIONES
INTERCAMBIO CIENTIFICO Y EXTENSION UNIVERSITARIA**

ESTUDIOS FOTOBIOLOGICOS EN EL HYDROA VACCINIFORME

**Resumen de la Tesis presentada para aspirar
al grado de Doctor en Medicina por
MARIO LECHA CARRALERO**

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

Facultad de MEDICINA

Tesis doctoral del Dr. MARIO LECHA CARRALERO

Tema: ESTUDIOS FOTOBIOLOGICOS EN EL HYDROA VACCINIIFORME

TRIBUNAL DE TESIS

Presidente: Dr. D. ALFONSO BALCELLS GORINA
Catedrático de Patología gral. y Propedeutica clínica
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Vocales: Dr. D. SANTIAGO VIDAL SIVILLA
Catedrático de Fisiología general y química biológica y
Facultad de Medicina fisiología especial
Universidad de Barcelona

Dr. D. DIEGO RIBAS HUAL
Catedrático de Histología y Anatomía patológica
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Dr. D. JOAQUIN PIÑOL AGUADE
Catedrático de Dermatología y Venereología
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Prof. Agregado Dr. D. ANTONIO CASTELLÉS RODELLAS
Catedrático de Dermatología y Venereología
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Director: Dr. D. JOAQUIN PIÑOL AGUADE
Catedrático de Dermatología y Venereología
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Realizada la presentación y lectura de la Tesis, en fecha catorce de
octubre de 1976, obtuvo la calificación de Sobre-
saliente cum laude por unanimidad.

Barcelona, 20 de diciembre de 1976

Sello de Facultad

EL DECANO,

Fdo.: J. Obiols Vié

Universidad de Barcelona
Facultad de Medicina

ESTUDIOS FOTOBIOLOGICOS EN EL HYDROA VACCINIFORME

Mario Lecha Carralero

Resumen de la tesis presentada para aspirar al grado de Doctor

Octubre 1976

THE UNIVERSITY OF CHICAGO
DEPARTMENT OF CHEMISTRY
530 SOUTH EAST ASIAN AVENUE
CHICAGO, ILLINOIS 60607
TEL: 773-936-3700

RESEARCH ASSISTANT
APPLY TO: DR. J. K. STILLE
530 SOUTH EAST ASIAN AVENUE
CHICAGO, ILLINOIS 60607

RESEARCH ASSISTANT
APPLY TO: DR. J. K. STILLE
530 SOUTH EAST ASIAN AVENUE
CHICAGO, ILLINOIS 60607

RESEARCH ASSISTANT
APPLY TO: DR. J. K. STILLE
530 SOUTH EAST ASIAN AVENUE
CHICAGO, ILLINOIS 60607

RESEARCH ASSISTANT
APPLY TO: DR. J. K. STILLE
530 SOUTH EAST ASIAN AVENUE
CHICAGO, ILLINOIS 60607

RESEARCH ASSISTANT
APPLY TO: DR. J. K. STILLE
530 SOUTH EAST ASIAN AVENUE
CHICAGO, ILLINOIS 60607

RESEARCH ASSISTANT
APPLY TO: DR. J. K. STILLE
530 SOUTH EAST ASIAN AVENUE
CHICAGO, ILLINOIS 60607

RESEARCH ASSISTANT
APPLY TO: DR. J. K. STILLE
530 SOUTH EAST ASIAN AVENUE
CHICAGO, ILLINOIS 60607

Introducción

Dado que en el periodo comprendido entre los años de 1968 a 1974 se observaron en la Cátedra de Dermatología de la Facultad de Medicina de Barcelona, dirigida por el Prof. Dr. D. J. Piñol Agudé, 10 casos calificables de *Hydroa vacciniforme seu aestivalis* ello nos permitió realizar un estudio muy completo sobre esta entidad cuya casuística en la literatura dermatológica no es muy numerosa y cuya fotodependencia por otra parte, aunque evidente, no ha podido ser demostrada con resultados concluyentes.

Gracias al equipo de que se dispone en el departamento de Fotobiología de la Cátedra se pudo realizar un estudio fotobiológico completo además de una investigación de los mecanismos de reparación del DNA lesionado por las radiaciones ultravioleta.

El trabajo que presentamos incluye:

- 1.- Estudio clínico del *Hydroa vacciniforme*
- 2.- Estudio histológico
- 3.- Estudio fotobiológico
- 4.- Estudio del estado de los mecanismos de reparación del DNA en los fibroblastos y linfocitos de nuestros enfermos.
Su posible implicación patogénica.
- 5.- Posibilidades terapéuticas
- 6.- Ensayo de interpretación patogénica.

Importancia de los estudios fotobiológicos

Es evidente que en la actualidad los estudios fotobiológicos en las enfermedades dermatológicas han adquirido una importancia e interés considerables.

La radiación luminica, que comprende una amplia gama de longitudes de onda, alcanza la superficie terrestre en una banda situada normalmente entre los 290 nm y los 760 nm, banda que constituye el denominado espectro fotobiológico. En él se incluyen fundamentalmente la radiación ultravioleta y la luz visible que son aquellas

radiaciones que al ser absorbidas por los seres orgánicos además de por diversas sustancias constituyen el eje alrededor del que se producen los fenómenos fotobiológicos.

Los fenómenos fotobiológicos dependen de un fenómeno central que es la absorción de la radiación, de ahí la importancia del espectro de absorción, patrón de absorción de las distintas bandas de radiación por una sustancia o sistema biológico. Otro concepto de importancia capital es también el de acción espectro, concepto aparentemente coincidente con el primero, pero distinto en realidad puesto que traduce específicamente la eficacia de las distintas bandas de absorción o de radiación en el desencadenamiento de un determinado fenómeno biológico.

En la piel, el sistema biológico complejo que constituye el objeto de nuestro estudio, los fenómenos determinados por la acción de la radiación luminica dependen de su penetración a través de la misma siendo las longitudes de onda habitualmente activas las comprendidas entre los 280 nm y los 700 nm. La penetración de la radiación luminica en la piel se ve modificada habitualmente por los caracteres propios del individuo (raza), por las características estructurales de la piel (espesor de la capa córnea) y también por factores externos (factores climáticos).

La acción real de la radiación luminica una vez absorbida dependen entonces de su acción a nivel molecular dentro de las estructuras biológicas donde actúa a través de la formación de moléculas excitadas, singlets, triplets y radicales libres.

Reacciones fotobiológicas normales de la piel

La piel puede presentar al reaccionar con la radiación luminica unas alteraciones que se consideran como fisiológicas. Estas comprenden el eritema actínico, la agregación de la melanina ya formada y la neoformación de melanina, y el engrosamiento de la capa córnea. La acción repetida de la radiación luminica sobre la piel produce como reacción tardía lo que se conoce como la degeneración actínica de la piel.

Así mismo la acción de la luz da lugar en los tejidos conectivos a fenómenos diversos como son la alteración de la elasticidad por modificación del estado de hidratación así como alteraciones a nivel enzimático.

Métodos de exploración fotobiológica

Para proceder a la exploración fotobiológica de los enfermos tenemos que efectuar diversas pruebas para lo que recurrimos al empleo de fuentes de radiación artificiales controladas que nos permiten un estudio objetivo de la reactividad de la piel y sus componentes frente a la radiación en sus distintas bandas, evitando así la difícil estandarización de las exploraciones realizadas con la fuente natural de radiación, el sol.

El número de fuentes de radiación lumínica artificiales de que podemos disponer es considerable:

- 1.- Lámpara de cuarzo caliente
- 2.- Lámpara de arco de carbón
- 3.- Lámpara de arco de xenon
- 4.- Lámpara fluorescente tipo "sunlamp".
- 5.- Lámpara fluorescente tipo "luz negra"
- 6.- Luz de Wood
- 7.- Lámpara fluorescente corriente
- 8.- Lámpara de Kromayer
- 9.- Lámpara de Tungsteno
- 10.- Lámpara de Cuarzo-yodo
- 11.- Lámpara germicida
- 12.- El monocromador

Su empleo se complementa con el uso de filtros de absorción o de interferencia que permiten la selección más eficaz de algunas bandas de radiación.

Con estas fuentes de radiación se puede proceder a la exploración del enfermo mediante la aplicación de una serie de técnicas preestablecidas que comprenden:

- La determinación del umbral eritema y suberitema
- La determinación de la respuesta al DED (Delayed Erythema Dose).
- Test fotointradérmico
- Fotopatchtest
- Exploración con luz fluorescente
- Transmisión pasiva y transmisión pasiva invertida
- Test del cristal de ventana
- Determinación de la acción espectro (del eritema actínico)
- Determinación de la acción espectro de la acción de diversos fotosensibilizantes y su degradación por la acción de la luz.
- Pruebas de provocación (p. ej. con papel de cel.lo)

Fotobiología celular y molecular

Si nos situamos a nivel celular y molecular sabemos en la actualidad que la radiación lumínica actúa sobre las células y más aún sobre su material genético por lo que éstas disponen de mecanismos fisiológicos de protección y reparación de los daños causados. Estos descubrimientos fueron utilizados por Cleaver para la investigación sobre células humanas cultivadas llegando al hallazgo de la existencia de posibles alteraciones de los mismos que podían determinar una patología. Este fue el caso del Xeroderma pigmento sum, entidad en la que dicho autor estableció como factor etiopatogénico la alteración de los mecanismos de reparación del DNA celular dañado por la acción de la radiación ultravioleta.

En esquema lo que ocurre a nivel del DNA que recibe determinada dosis de radiación lumínica, especialmente de 254 nm, es lo siguiente: La energía absorbida y transmitida a través de las moléculas excitadas produce la formación de enlaces nuevos entre bases pirimidínicas contiguas como la timidina, con lo que quedan formados dímeros de timina que alteran la estructura del DNA. La célula dispone de mecanismos para reparar dicha alteración. Estos mecanismos son de tres tipos fundamentales:

- 1.- La fotorreactivación ("LIGHT REPAIR")
- 2.- La reparación por excisión ("DARK REPAIR") con diversas

variantes. Este es el mecanismo mas estudiado y mejor conocido en las células humanas.

3.- La recombinación

La ausencia o déficit de estos mecanismos puede evidentemente determinar una patología específica dentro de las dermatosis por fotosensibilidad y por tanto es un elemento nuevo a introducir en la exploración de aquellas entidades clínicas en las que la intervención patogénica del factor lumínico es evidente.

El estudio del funcionamiento de estos mecanismos de reparación del DNA ("DARK REPAIR") se puede efectuar sobre los cultivos de fibroblastos en monocapa, sobre células epiteliales y linfocitos evidenciándolos mediante empleo de bases pirimidínicas marcadas y técnicas de autorradiografía o mediante técnica de gradiente de densidades.

Estudios en el Hydroa Vacciniforme

Este cuadro clínico conocido desde su primera publicación por Bazin en 1862, no ha sido objeto de aparición frecuente en la literatura dermatológica por su mínima incidencia y por que realmente nunca constituyó una entidad clínica perfectamente individualizada ni patogénicamente clara. Durante mucho tiempo por ejemplo, a parte de otras posibilidades de confusión, las limitaciones en el progreso del conocimiento sobre el hydroa vinieron determinadas por el hecho de que casi la mayoría de autores lo consideraban como una porfiria.

Sin embargo con el transcurso de los años, diversos autores fueron recogiendo datos fragmentarios en publicaciones aisladas y de esta forma se fueron reuniendo elementos característicos clínicos e histológicos que contribuyeron a la progresiva individualización de su cuadro clínico. Así mismo se hicieron diversas hipótesis sobre las posibilidades etiopatogénicas de esta enfermedad. Dado que la incidencia no es realmente muy elevada, solo en 1963, es decir diez años después de la primera descripción de Bazin, los autores

Mac Grae y Perry ,pueden hacer un balance de conjunto de toda la información sobre Hydroa existente.Con ello podemos decir que es en este momento cuando la entidad queda finalmente bien individualizada desde el punto de vista clínico e histológico.

Clinicamente el hydroa se caracteriza por su presentación despues de la exposición al sol o al aire libre,con lesiones que se localizan pues en partes descubiertas acompañándose de sintomatología general muy discreta, Las lesiones son inicialmente maculoeritematosas y sobre ellas se desarrollan precozmente vesículas traslúcidas que posteriormente se umbilican, se secan y dan lugar a la formación de una costra que finalmente se desprende dejando al descubierto una lesion residual cicatricial deprimida.Su incidencia es fundamentalmente durante la primavera o el verano aunque pueden presentarse brotes en cualquier época del año aunque con menor gravedad.Se señalan diversas formas clínicas de presentación con un predominio en el sexo masculino y un 10 % de aparición familiar.

En resumen podemos decir que el hydroa constituye una erupción recurrente vesiculosa de partes descubiertas que deja lesiones cicatriciales residuales.No existen relaciones con las porfirias se presenta fundamentalmente en la infancia o adolescencia y cursa de forma crónica aunque autolimitada.

Histológicamente se consideró inicialmente que la lesion especifica estaba constituida por una necrosis focal de la epidermis que daba origen a un proceso inflamatorio dermo-epidermico con formación de una vesicula a nivel del estrato espinoso y necrosis subsiguiente de la epidermis y de la dermis.Esta fue la concepción inicial de la histología del hydroa establecida por Bowen y que no se ha modificado sensiblemente ni despues del estudio de Mac Grae y Perry, que siguieron considerando como lesion inicial fundamental la necrosis focal de la epidermis.

Por lo que se refiere al capítulo de la etiopatogenia, una vez salvada la confusión con las porfirias, quedan reducidas las posibilidades al factor lumínico aunque algunos autores no dejen de sugerir

una posible alteración del metabolismo de los aminoácidos.

Los estudios fotobiológicos realizados hasta ahora y no en todos los casos no han aportado ningún dato significativo, siendo las exploraciones realizadas muy dispares y los resultados difícilmente valorables en conjunto, aunque en algunos casos (Epstein, Tedeschi y Parisi, Zarfonetis y Schiff y Jillson) se demostró la existencia de alteraciones de la sensibilidad a la radiación luminica.

Resultados obtenidos en el estudio realizado

1) Desde el punto de vista clínico :

El estudio de nuestros enfermos nos permitió confirmar algunas de las características consideradas como clásicas y establecer un cierto número de discrepancias como son la observación de casos con lesiones en partes cubiertas, lesiones con características morfológicas diversas como las denominadas formas mayor, minor, forma impetigoide, forma periorificial.

2) Desde el punto de vista histológico :

En el estudio histológico realizado en 8 de los 10 casos hemos podido constatar el hecho de que las alteraciones histológicas son uniformes a pesar del polimorfismo clínico con una secuencia lesional perfectamente definida y distinta de la que se ha admitido clásicamente.

Segun nuestras observaciones la lesión se inicia a nivel del dermis papilar, con edema y deshilachamiento progresivo del mismo y finalmente necrosis focal con alteraciones vasculares concomitantes mas o menos acusadas. La necrosis total de la dermis da lugar por licuefacción a la formación de una ampolla subepidérmica. Secundariamente se desarrollan como apifenómenos las alteraciones epidérmicas consideradas clásicamente como características, con necrosis epidérmica y formación de una ampolla intraepidérmica lo que en algunos casos da lugar a la aparición de imágenes de doble ampolla.

3) Desde el punto de vista fotobiológico :

El estudio fotobiológico exhaustivo mediante la determinación del MED, estudio del DED y de la acción espectro, no permitieron establecer ninguna alteración característica definida específica, coincidiendo a este respecto con idénticos resultados decepcionantes obtenidos por otros autores (Mac Grae y Perry, Jaschke, Reinken y Frisch). Se confirma pues el hecho de que estos enfermos presentan junto a una alteración clínica evidente de la fotosensibilidad una ausencia de alteraciones significativas de las pruebas de exploración fotobiológica.

4) Otras exploraciones :

Teniendo en cuenta la confusión existente durante mucho tiempo con las alteraciones del metabolismo de las porfirinas, en todos los enfermos se practicaron determinaciones de porfirinas en sangre, orina y heces que fueron negativas en todos los casos.

Por otra parte como sigue considerandose la posibilidad de una alteración del metabolismo de los aminoácidos, se efectuaron así mismo determinaciones de la excreción urinaria de aminoácidos en todos los enfermos cuyos resultados no mostraron alteraciones valorables por su constancia o especificidad.

5) Estudio de los mecanismos de reparación de DNA :

Para realizar este estudio hemos seguido la técnica de Cleaver empleada por este autor en su estudio sobre el Xeroderma pigmentosum.

La técnica consiste en establecer un cultivo de fibroblastos a partir de piel del enfermo; este cultivo se transforma en una extensión en monocapa con la que se puede proceder al estudio de los mecanismos de reparación del DNA, irradiando los fibroblastos con la longitud de onda adecuada (254 nm) e incubándolos posteriormente en la oscuridad durante 3 horas en medio de cultivo adicionado de un elemento trazador marcado (timidina tritiada) y finalmente fijándolos para efectuar una valoración de la cantidad de trazador incorporado ya sea mediante autorradiografía o mediante la técnica

de gradiente de densidad.

En nuestro trabajo hemos utilizado la valoración autorradiográfica con recuento de las granulaciones de los núcleos celulares de la misma forma en que fue empleada por Cleaver y utilizando como parámetros los datos obtenidos por dicho autor.

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo denostaron una sensible disminución del número de gránulos incorporados en los núcleos celulares despues de irradiar las células y proceder a un periodo de incubación en la oscuridad de 3 horas, en los cultivos de fibroblastos pertenecientes a enfermos afectos de Hydroa vacciniiforme respecto a los fibroblastos procedentes de individuos normales empleados como controles, asi como con el cultivo de un enfermo afecto de síndrome de Rothmund-Thomson. Asi mismo se observaron diferencias con los hallazgos propios del Xeroderma pigmentosum. En esta entidad el número de células con mecanismo de reparación ("DARK REPAIR") competente solo constituye un 10 % aproximadamente de la totalidad en cambio en los casos de Hydrda las células competentes constituyen la mayoría (90 %) pero su grado eficacia en la reparación presenta una evidente disminución incluso respecto del grado de eficacia del mecanismo de reparación en las células de xeroderma pigmentosum funcionantes.

Por otra parte se efectuó un test similar con linfocitos segun la técnica de Horkay, Tamasí y Csongor (modificada por el Prof. Castells Rodellas). Con este test de técnica mas simple se comprobó igualmente una alteración de los mecanismos de reparación del DNA y asi mismo se efectuó en cuatro casos un control de los resultados terapéuticos obtenidos con Talidomida administrada segun las indicaciones de Londoño.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio permiten establecer las siguientes conclusiones:

a) Desde el punto de vista clínico nos hallamos ante un cuadro de caracter clínico polimorfo con formas de presentación peculiares como la descrita con la denominación de Hydroa periorificialis.

b) Desde el punto de vista histológico concluimos que el *Hydroa vacciniforme* presenta una manifiesta y característica secuencia lesional histológica uniforme que tiene como origen una necrosis focal del dermis superficial. A partir de dicha lesión se produce una cadena de fenómenos lesionales tanto hacia la dermis como hacia la epidermis.

c) Desde el punto de vista fotobiológico no se ha podido demostrar objetivamente una alteración de la sensibilidad a la luz con un patrón o acción espectro específicos del *Hydroa vacciniforme*.

d) Se ha excluido también las alteraciones del metabolismo de las porfirinas o de los aminoácidos.

e) En el estudio de los mecanismos de reparación del DNA se demostró la existencia de una disminución de la capacidad de reparación del DNA ("DARK REPAIR") en relación a los individuos normales. Esta alteración sería comparable a la del *Xeroderma pigmentosum* aunque de grado mucho menor ya que en el X.P. existe una reducción del número de células competentes (sólo un 10 %) junto a una reducción en el número de gránulos incorporados en su núcleo; en el *Hydroa* en cambio no existe prácticamente disminución del número de células competentes (aproximadamente el 90 %) y si solamente una reducción muy marcada del número de gránulos incorporados al núcleo celular.

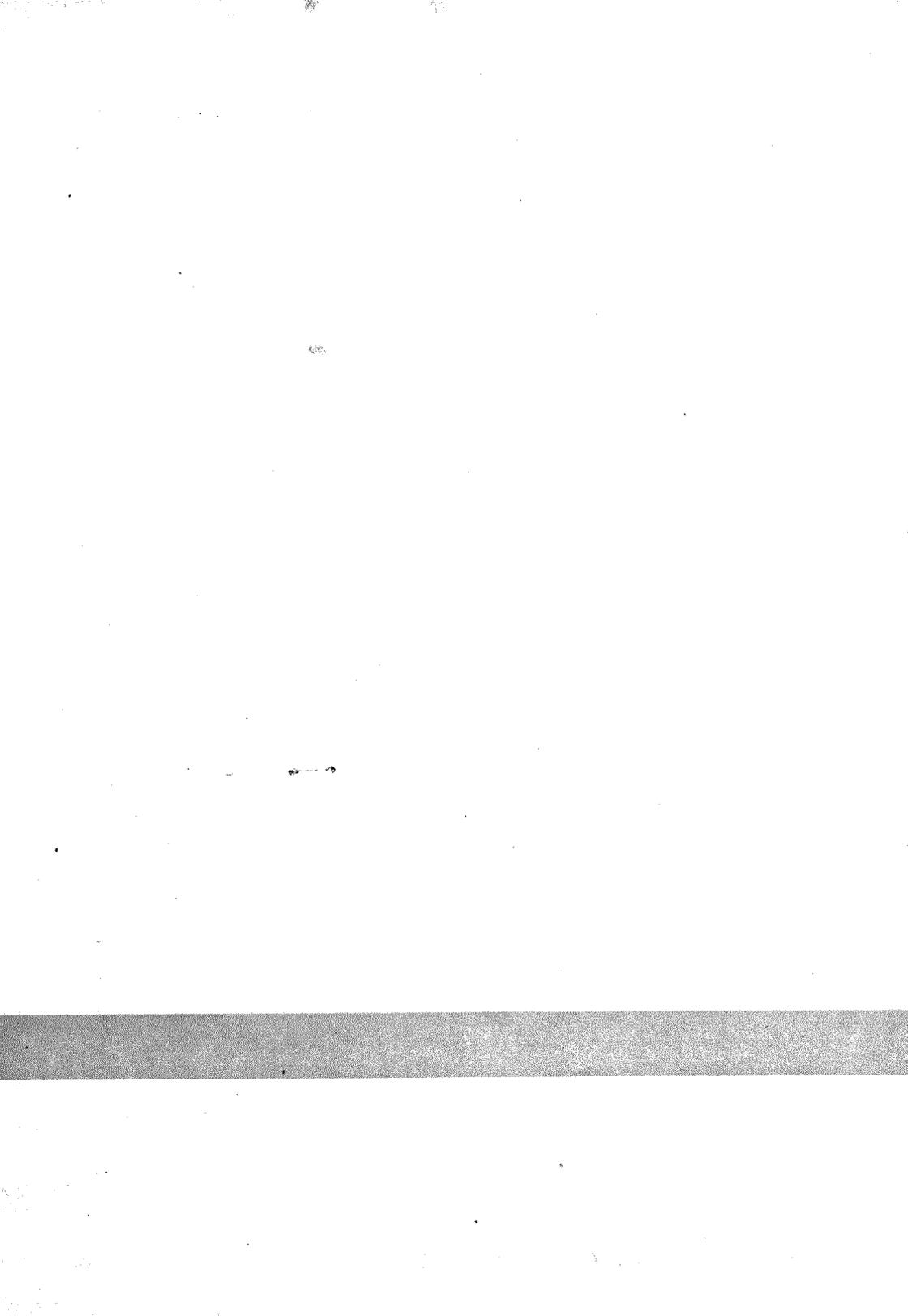
En el test efectuado con linfocitos se demostró también la existencia de una disminución en el grado de incorporación de timidina tritiada después de la irradiación. Así mismo en los tests repetidos después del tratamiento ensayado, en dos de los casos en que éste fue eficaz, el test linfocitario mostró una recuperación evidente de la tasa de incorporación de timidina tritiada después de la irradiación.

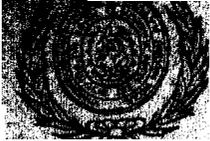
Depósito Legal B.: 6.267-1979

EDICIONES DE LA UNIVERSIDAD DE BARCELONA

(043) 76

LEC





UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA PROFESIONAL DE DERMATOLOGIA
VENEREOLOGIA

El Prof. Dr. Dn. JOAQUIN PIÑOL AGUADE, Catedrático de Dermatología y Venereología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona.

CERTIFICA

Que Dn. MARIO LECHA CARRALERO ha realizado personalmente, bajo su dirección y orientación la Tesis titulada: "ESTUDIOS FOTOBIOLOGICOS EN EL HYDROA VACCINI-FORME". Estando conforme con su presentación para ser juzgada.

Barcelona, 30 de Junio de 1976

Fdo. Prof. J. Piñol Aguadé

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

Facultad de Medicina

Departamento de Dermatología y Sifiliografía

Escuela Profesional de Dermatología

Catedrático Director

Prof. Dr. D. Joaquín Piñol Agudé

ESTUDIOS FOTOBIOLÓGICOS EN EL HYDROA .VACCINIFORME

Tesis para aspirar al grado de Doctor

Mario Lecha Carralero

A mi esposa y a mi hija.

Al Prof. Dr. D. Joaquín Piñol Agudé,
mi maestro, de quien he recibido amis
tad, ayuda y comprensión, dedicándome
además su inagotable paciencia, todo
lo cual ha hecho posible que este tra
bajo llegara a término.

Debo agradecer asimismo la colaboración prestada:

Al Prof. Dr. Castells Rodellas, Prof. Agregado a la Cátedra de Dermatología de la Universidad de Barcelona.

Al Dr.D. Jorge Vives Puiggros, Jefe del Departamento de Inmunología del Hospital Clínico y Provincial.

Al Dr. D^a Francisca Ballesta Martínez, Jefe del Departamento de Genética del Hospital Clínico y Provincial.

Al Dr.D. J.R. Guix Melcior, a la Dr. T. Castel y a los compañeros del Servicio de Dermatología del Hospital Clínico y Provincial, así como a las A.T.S. y auxiliares

Srta. María Sala

Srta. Marta Ribera

Srta. M^a de los Angeles Sala

y a las secretarias

D^a Matilde Piera y D^a Carmen Marcos.

PARTE I - MOTIVO DE LA TESIS

MOTIVO DE LA TESIS

En el servicio de Dermatología de la Facultad de Medicina de Barcelona, dirigido por el Prof. J. Piñol Aguadé, hemos tenido la ocasión de observar en el periodo comprendido entre los años 1968-1974, diez casos calificables de Hydroa Vacciniforme seu aestivalis. Ello nos ha permitido iniciar el estudio clínico, histológico y etiopatogénico de esta entidad poco estudiada, ya que los conocimientos que sobre la misma se pueden recoger en la literatura no son realmente considerables.

El disponer de un material clínico importante de esta entidad muy rara y un equipo adecuado para una exploración, ha hecho posible realizar una investigación profunda desde el punto de vista fotobiológico. La fotodependencia de esta enfermedad, a pesar de que parece constituir el factor objetivo etiopatogénico quizá más destacado de la misma, no ha sido aclarada hasta ahora. Los resultados de nuestro trabajo permiten considerar las relaciones del hydroa con los factores lumínicos de forma mas evidente de la que hasta ahora ha sido establecida por los distintos autores que se han ocupado de este proceso y nuestra intención de llegar al límite de nuestras posibilidades la investigación nos ha llevado a incluir en nuestro estudio los métodos para detectar los mecanismos de reparación del DNA lesionado por la radiación lumínica para lograr así la máxima información de la naturaleza de esta afección.

El estudio de los mecanismos de reparación del DNA en cultivos de fibroblastos y linfocitos en estos enfermos nos fué sugerido por los trabajos de Cleaver (1), Reed, Landing, Sugarman, Cleaver y Malnyk (2), Goldstein (3), Ramsay y Gianelli (4), realizados en el Xeroderma Pigmentosum y en la idea exteriorizada ya por Senear y Fink (5) sobre las posibles relaciones entre el Hydroa y esta última enfermedad.

De acuerdo con estas premisas los objetivos que planteamos en este trabajo pueden clasificarse de la siguiente forma:

- 1.- Estudio clínico del hydroa vacciniiforme.
- 2.- Estudio histológico.
- 3.- Estudio fotobiológico.
- 4.- Estudio del estado de los mecanismos de reparación del DNA en los fibroblastos y linfocitos en esta enfermedad. Su posible actuación como factor patogénico.
- 5.- Posibilidades de modificación de la terapéutica.
- 6.- Ensayo de interpretación patogénica.

PARTE II - IMPORTANCIA DE LOS ESTUDIOS FOTOBIOLOGICOS EN LAS ENFERMEDADES
DE LA PIEL.

BASES EN QUE SE ASIENTA LA FOTOBIOLOGIA DERMATOLOGICA.

INTRODUCCION

IMPORTANCIA DE LOS ESTUDIOS FOTOBIOLOGICOS EN LAS ENFERMEDADES DE LA PIEL

1) LA RADIACION LUMINICA.- La radiación lumínica no se emite de forma continua sino en pequeñas unidades o grupos de energía denominados "quanta" o fotones (Ley de Planck de los "quanta"), y por ello la radiación es intermitente. Ello constituye la base de la teoría de Einstein. El "quantum" de radiación es el producto de su frecuencia (vibración por segundo) por la constante de Planck.

$$E = h\nu$$

E = quantum energía. h = constante de Planck = 6.63×10^{-27}

ν = frecuencia de la radiación.

Un érgio representa la mínima cantidad de energía que permite levantar a un cm. el peso del gr. o más exactamente 1/980 gr. Los "quanta" de luz visible solamente contienen millonésimas de esta unidad. Los "quanta" pueden ser emitidos o absorbidos.

De acuerdo con esta teoría, la energía de la radiación depende de su longitud de onda, es decir es inversamente proporcional a la misma, cuando ésta disminuye, la energía correspondiente aumenta. Por ello la frecuencia y la longitud de onda son inversamente proporcionales. La totalidad de partículas de la radiación lumínica se conoce con el nombre de espectro electromagnético.

2) ESPECTRO FOTOBIOLÓGICO.- La radiación electromagnética se extiende a través de una amplia gama de longitudes de onda que oscilan entre las más pequeñas de 0,1 (nanómetros) hasta las longitudes de onda de la radio de varios kms. La luz solar que alcanza la superficie de la tierra está constituida por un espectro continuo que contiene longitudes de onda entre 290 y 1850 nm. La radiación ultravioleta y visible se sitúa entre los 290 y 760 nm., es esta banda la que corrientemente se denomina espectro fotobiológico. De hecho el espectro fotobiológico completo abarca desde 300 a 1.110 nm. comprendiendo el 75% de la energía radiante solar.

LUZ VISIBLE.- Es la parte del espectro capaz de inducir una reacción a nivel de la retina humana. Está comprendida entre 400 y 760 nm. A partir de esta longitud de onda de 760 nm., las radiaciones se denominan infrarrojas. Las longitudes de onda menores a partir de 297 nm. constituyen radiaciones inadecuadas para la vida y son capaces de dañar seriamente los tejidos, desnaturalizando las proteínas, despolimerizando los ácidos nucleicos y destruyendo los enzimas biológicos.

Por el contrario las radiaciones correspondientes al espectro fotobiológico son extraordinariamente útiles ya que dan lugar a los fenómenos de fotosíntesis y fotoreactivación, condicionan la fotopercepción visual, la melanogénesis, etc. En el organismo humano es la piel la que más se beneficia de la acción de estas radiaciones.

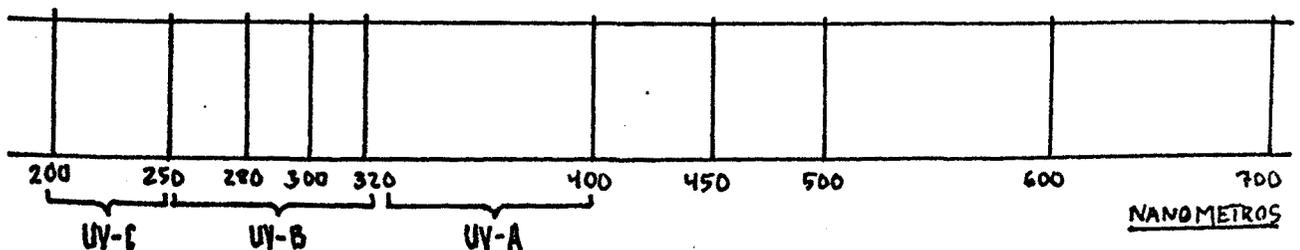
LA RADIACION ULTRAVIOLETA.- Constituye solamente una pequeña parte del espectro electromagnético y por definición comprende las longitudes de onda entre 5 y 380 nm. aunque habitualmente se consideran como radiación ultravioleta las situadas entre 200 y 360 nm. Estas radiaciones se localizan entre los rayos X más blandos y los rayos más cortos del espectro visible. Recientemente se ha propuesto su subdivisión en:

- 1.- UV próximos - Longitudes de onda superiores a 300 nm.
- 2.- UV medios - " " " entre 200 y 300 nm.
- 3.- UV lejanos - " " " inferiores a 200 nm.

Estos últimos son los UV "espaciales" ya que su energía es prácticamente absorbida por la atmósfera y su demostración requiere condiciones de atmósfera inerte. Los UV medios y próximos son los que condicionan las reacciones producidas por fotosensibilizadores exógenos y endógenos.

En la literatura germana se ha establecido desde Coblentz (1932)(6) la siguiente subdivisión.

- UV - A - de 400 a 315 nm.
- UV - B - de 315 a 280 nm.
- UV - C - de 280 a 200 nm.



Espectro de absorción y acción espectro.- La radiación lumínica reacciona con la materia por ser específicamente absorbida por la misma con un determinado patrón o espectro de absorción. Este concepto debe contraponerse al de la acción espectro.

La acción espectro constituye la representación gráfica de la eficacia de las distintas longitudes de onda en el desencadenamiento de un efecto biológico específico. La acción primaria de la luz puede determinar distintas reacciones que pueden considerarse como parámetros en el estudio de la acción biológica de la luz. Algunas de estas reacciones son susceptibles de medición. Desde el punto de vista experimental lo más práctico es escoger una determinada forma de reacción y hallar la cantidad de energía necesaria para alcanzar este punto final.

De esta manera podemos llegar a representar una acción espectro. La forma práctica de llegar a ello la describiremos más tarde.

En condiciones ideales debería coincidir con mucha frecuencia la acción espectro y el espectro de absorción, pero cuando trabajamos sobre sistemas biológicos, que por naturaleza son complejos, aquellos suelen ser distintos, como consecuencia de interreacciones patobiológicas, por ello en los sistemas biológicos y por ende en Dermatología, la acción espectro adquiere una mayor significación clínica que el espectro de absorción.

PENETRACION DE LA RADIACION LUMINICA A TRAVES DE LA PIEL.

Las radiaciones lumínicas dan lugar a unas respuestas normales a nivel de la piel. Estas respuestas obedecen a unos mecanismos de acción determinados desencadenados por la mayor o menor penetración de las mismas.

La radiación lumínica, penetra, tanto en la epidermis como en la dermis de forma muy irregular, puesto que la piel constituye un medio "turbio" compuesto por diversas capas de distinto espesor y características según los diferentes sujetos. Por tanto la penetración de la radiación dependerá de las características de transmisión, reflexión, absorción o dispersión de las distintas capas que constituyen la piel y de las condiciones especiales de cada individuo.

Se suponía que la penetración en la piel de las radiaciones entre 200 y 300 nm. desempeñaban un papel muy poco importante pues no atraviesan prácticamente el estrato córneo y por otro lado son rayos en parte ausentes de la radiación solar que habitualmente nos llega en nuestras latitudes, ya que la mayor parte solo nos alcanza en días especialmente claros. El resto del año quedan interferidos por el ozono, polvo atmosférico, vapor de agua, etc. Sin embargo Epstein y Pathak (1971)(7) indican que las radiaciones entre 250 y 300 nm. tienen interés en el desencadenamiento de las reacciones normales de la piel frente a las radiaciones tales como el eritema actínico, la melanogénesis, liberación de radicales libres, reacciones de fotosensibilización, etc. Según estos autores si bien la mayor parte de la radiación por debajo de 300 nm. no pasa del estrato córneo, sí puede atravesarlo un 5 a 15%, especialmente la radiación situada entre 240-260 nm.

PENETRACION DE LA RADIACION LUMINICA

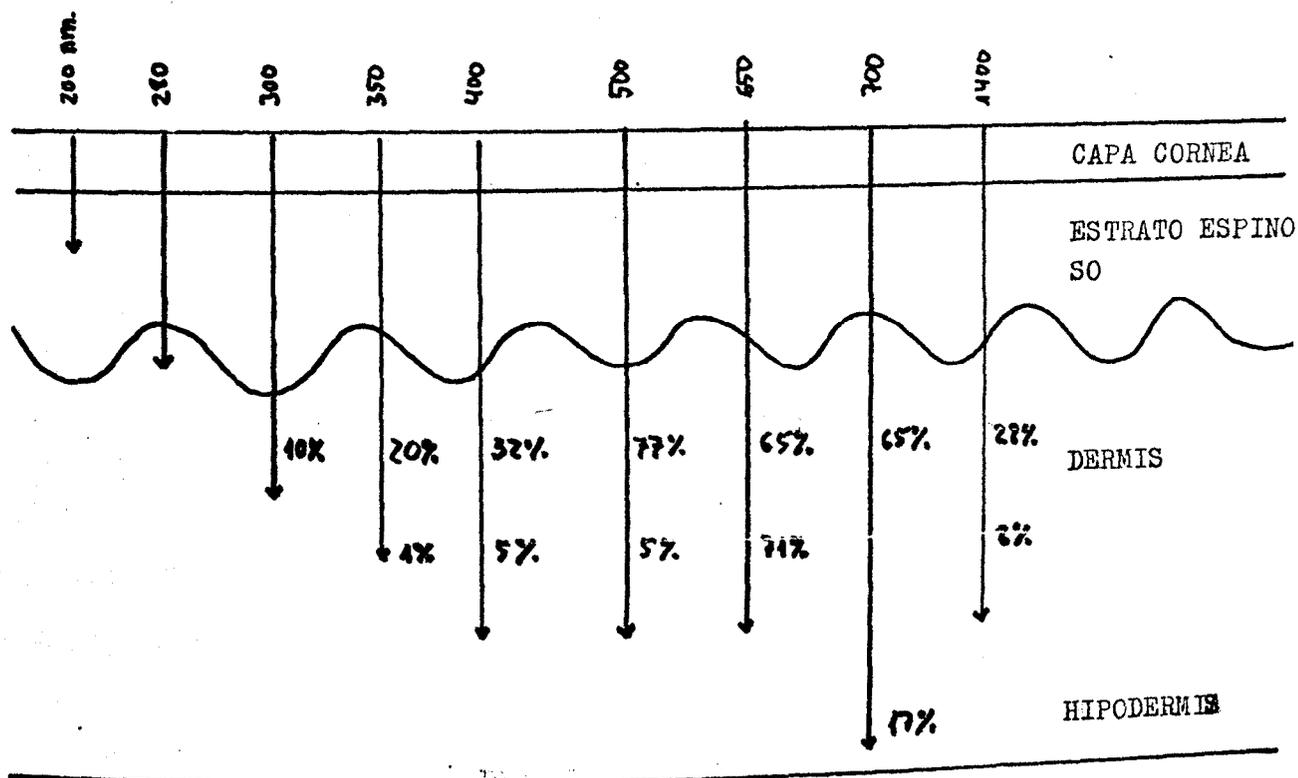


FIG. 1

Por encima de los 300 nm., y hasta los 750 el estrato córneo permite el paso de hasta un 82-87 % de radiación. Estas radiaciones llegan a la dermis en cantidades variables que oscilan entre un 10 % de 300 nm., 20 % de 350 nm., 33% de 400 nm., 82 % de 550 nm.

En el otro extremo del espectro fotobiológico a nivel de rojo o infrarrojo (por encima de 750 nm.) se produce el máximo de penetrabilidad, alcanzando el 65 % de esta radiación plenamente la dermis.

En realidad, sin embargo, la profundidad de la penetración de las diferentes longitudes de onda varía en cada individuo, dependiendo de factores raciales, regionales y estructurales (p. ej. el grosor de la capa córnea es un factor importante, de ahí el establecimiento del test del previo "pelado" con papel de celo). La melanina es otro de los grandes factores modificadores de la penetración por su absorción y reflexión de diversas longitudes de onda, influyendo grandemente en la respuesta de la piel a la luz. La melanina actúa como filtro óptico absorbiendo radiación o bien transformándola en calor (descomposición térmica). Actúa como captador de energía estabilizando los radicales libres formados. Ello explica las diferencias raciales según la pigmentación.

Otros factores que pueden influenciar la penetración de la radiación lumínica pueden ser:

a) Factores climáticos: Son muchas veces definitivos ya que el contenido energético de una radiación determinada depende de su longitud de onda y ésta está relacionada con la distribución de la energía solar según diversos factores, como son la latitud, la hora del día, la estación del año, la altitud, las condiciones atmosféricas locales y la masa de aire. En el hemisferio norte durante los meses de Julio y Agosto se recoge la mayor cantidad de energía lumínica y los fenómenos de fotosensibilización se suelen observar durante el período comprendido entre los meses de Abril a Septiembre con mayor frecuencia.

b) Merece especial mención el factor viento, que intensifica notablemente la acción de la radiación lumínica, Knorx, Owens, Hudson and Troll (1974) (8) han demostrado experimentalmente la acción coadyuvante del viento en la aplicación de radiaciones ultravioleta a dosis elevadas en ratones irradiados en túneles con corriente de aire continua. Los animales sometidos a la irradiación simple presentaron lesiones mucho más discretas que los animales irradiados en las condiciones mencionadas. El viento por si solo no produjo lesión ninguna objetivable. De esta forma podemos denominar "windburn" la intensificación del "Sunburn" por el viento.

c) Otros factores a tener en cuenta son las posibles acciones de otras fuentes de luz. Si bien habitualmente las fotodermatosis son determinadas por la luz solar natural, en casos excepcionales pueden ser causadas por fuentes de luz artificial si no están convenientemente filtradas, conteniendo por ello cantidades importantes de radiación ultravioleta corta. Algunas formas de iluminación industrial puede constituir peligros considerables, así por ejemplo la luz fluorescente, los arcos de carbón y las luces de oxiacetileno. Otros casos publicados hacen referencia incluso a la iluminación de las calles o a la luz de los proyectores de películas, todas ellas produciendo radiaciones dentro de la banda eritrógena.

Actuación de la luz.- La energía lumínica una vez ha penetrado en la piel produce a su nivel un determinado tipo de fotoreacción si la energía cuántica de la misma ha sido absorbida (la que es reflejada o transmitida no es utilizable lógicamente).

Esta absorción puede producirse a nivel de las mismas estructuras o componentes biológicos de la piel o por interacción con sustancias fotosensibilizantes.

Pueden definirse como sustancias fotosensibilizantes todas aquellas que aumentan la reactividad de la piel frente a los rayos ultravioleta o la luz visible. Estos compuestos químicos poseen unas propiedades características que se repiten en muchas de las moléculas y que son las siguientes:

a) Capacidad de absorción.- Son compuestos capaces de absorber fotones de alta energía; es decir, cuantos de luz de energía específica de las zonas correspondientes a la luz U.V. y luz visible. Gracias a su absorción selectiva en la zona de luz visible, muchos de estos compuestos tienen color (eosina, azul de metileno, por ejemplo). En realidad absorben las radiaciones complementarias a las de su color, es decir, la gonacrina se ve de color amarillo porque devuelve los rayos amarillos, en tanto que absorbe al máximo los azules, que son los del color complementario al amarillo. La fotosensibilización se hace, en cambio, por los rayos absorbidos. En la piel, la energía específica absorbida difunde y produce alteraciones biológicas que se traducen por cambios celulares y síntesis de melanina. Si se sitúa en la piel una sustancia capaz de captar esta energía difundida, pueden presentarse reacciones fotoquímicas anormales. Pero solo las radiaciones absorbidas por estas sustancias son capaces de ocasionar reacciones fotoquímicas. La absorción por las sustancias es específica. Por ejemplo, los ácidos nucleicos absorben energía de 280 nm., la difosforidina nucleótido de 340 nm., etc.

La ley de Kirchoff nos dice que los átomos absorben la misma luz que emiten: así si sobre un átomo de sodio incide una luz blanca compuesta, este átomo podrá absorber la luz amarilla; esto es, la del mismo color que la por él emitida.

Así pues, los cuanta electromagnéticos no tienen acción si no existe absorción, y es por ello que el espectro de absorción de estas sustancias es a menudo (aunque no siempre) el mismo que produce el espectro activador (acción espectro) de la piel.

La absorción lumínica implica transmisión de energía al sistema, pero los quanta de luz actúan solo sobre determinadas sustancias que por su estructura de átomos y moléculas son capaces de absorber las radiaciones. Las moléculas no pueden participar en las reacciones químicas o fotoquímicas si no poseen cierta cantidad de energía (E), llamada energía de activación. Los fotosensibilizantes la contienen y la cantidad de luz absorbida se halla en proporción a la cantidad de sustancia activa.

Debido a las propiedades de absorción de la luz, muchas de las sustancias fotosensibilizantes pueden actuar paradójicamente como filtros de luz cuando la aplicación queda estrictamente confinada a la superficie de la piel. Solo dejan pasar la radiación complementaria.

b) Fluorescencia y fosforescencia.— Cuando un quantum de luz apropiado es absorbido por una molécula, átomo o ión, se produce una molécula, átomo o ión activado (ley de Starck-Einstein). Este fenómeno se conoce con el nombre de reacción primaria. El proceso fotoquímico es muchas veces molecular.

Muchas veces las sustancias que absorben la luz son fluorescentes o fosforescentes. La fluorescencia y la fosforescencia son fenómenos que dependen de la posibilidad de que los electrones situados en las órbitas más externas de los átomos de ciertas sustancias puedan sufrir lo que se denomina "activaciones" o "excitaciones".

Para comprender el fenómeno de la "excitación", debemos recordar que por lo menos gran parte de la energía molecular depende de determinados movimientos de las propias moléculas. Los gases, p. ej. se componen de moléculas que se mueven en el espacio gracias a un movimiento de traslación de las mismas, pero al propio tiempo giran alrededor de su eje. Todas las moléculas están compuestas de átomos que están igualmente en un estado de constante vibración, y a su vez los átomos poseen electrones que efectúan movimientos de rotación, siguiendo determinadas órbitas alrededor del núcleo.

La energía de una molécula depende, pues, de la conjugación de los movimientos de traslación (energía de traslación), de vibración (energía de vibración), y de la rotación de los electrones de sus respectivas órbitas (energía electrónica).

Los movimientos se efectúan al mismo tiempo y cada uno de ellos se acompaña de niveles específicos de energía. No todas las moléculas poseen la misma cantidad de energía: algunas tienen más, otras menos; pero las únicas que pueden entrar a participar en reacciones químicas o fotoquímicas son aquellas cuya energía es igual o sobrepasa la energía de activación (E). Esta energía E de activación puede adquirirse, o bien por colisión con otras moléculas a través de reacciones químicas, o bien por la acción de fotones (reacciones fotoquímicas).

Los electrones que entran en consideración en fotobiología son los llamados σ y π , que corresponden a las órbitas s y p de los átomos. La mayor parte de los agentes fotosensibilizantes (psoralenes, azul de metileno y otros muchos) poseen este tipo de electrones. Hay también los electrones orbitarios n , o "pareja de electrones solitarios", que se hallan en las moléculas que contienen átomos de nitrógeno y de oxígeno, no implicados en las uniones actuales.

Los fotones -y por tanto las longitudes de onda- pueden efectuar una serie de acciones sobre las moléculas y los átomos, pero las más interesantes para nosotros son las producidas por la luz visible y los rayos U.V.

La absorción de la luz situada en estas regiones del espectro ocasiona unas peculiares alteraciones de los electrones σ y π , que, como hemos dicho, giraban en las órbitas periféricas de los átomos. Para activar estos electrones se necesita solamente una pequeña cantidad de energía lumínica de determinadas longitudes de onda (radiación U.V. y luz visible), que coinciden con los niveles de energía de estos electrones; es decir, que la energía asociada a estos fotones de microondas de radiación se sitúa fácilmente al nivel que afecta la motilidad vibrátil y electrónica de la molécula.

Todos y cada uno de los electrones orbitarios, además de girar en torno a su núcleo, giran también constantemente alrededor de su propio eje (giro electrónico). Esta constante rotación origina un campo magnético. Pero los electrones orbitarios se desplazan siempre en parejas, con un electrón girando en una dirección y otro en dirección opuesta. Gracias a ello, ambos campos magnéticos se contrarrestan y un "par de electrones" es, por lo tanto, magnéticamente neutro. Dado que, normalmente, en casi todas las moléculas fotosensibilizantes estables, todos los electrones van apareados, no existen campos magnéticos en los electrones orbitarios de los átomos corrientes.

Si una molécula de sustancia química fotosensible, como el psoralén, absorbe una cantidad de energía radiante en forma de luz visible o U.V., que sea capaz de desplazar la carga negativa representada por el núcleo del átomo, pueden ocurrir una serie de fenómenos que se producen especialmente en los electrones orbitarios externos antes indicados, que constituyen valencias unidas debilmente. Estos pueden ser expulsados de sus órbitas habituales y trasladados a órbitas más altas o externas no ocupadas. Este fenómeno sucede en casi todas las sustancias fotosensibilizantes.

La cantidad de energía requerida para este apartamiento depende del nivel orbitario en que se mueve el electrón, y es igual a la diferencia de energía que existe entre la órbita primitiva y la órbita superior o más externa. La energía que posee un electrón, una vez desprendido de la órbita habitual, es lo que se denomina "nivel de referencia". La energía que deja libre un electrón al ser bajado a una órbita más interna es también igual a la diferencia entre los niveles de energía de las dos órbitas.

Al modificarse la posición orbital de los electrones por absorción de energía lumínica, se originan en el agente fotosensible lo que hemos denominado "moléculas excitadas o activadas". La luz actúa inicialmente sobre la molécula en estado electrónico básico o fundamental ("ground electronic state"); es decir, en aquel estado en el cual los electrones se disponen

por pares y con el nivel de energía más bajo. Si un electrón es desplazado a un nivel orbitario más alto, pero sigue conservando inmodificado su movimiento de rotación sobre su propio eje en la misma dirección que tenía en la órbita original (rotación antiparalela con los no activados), la molécula todavía conserva sus parejas electrónicas con campos magnéticamente neutros, a pesar de tener un par de electrones a nivel de energía más alto que en la molécula original. Se dice entonces que se ha producido un estado de "singlet excitado" (a), y la molécula que ha absorbido suficiente energía para elevar uno de sus electrones a una órbita más alta, se la denomina "molécula excitada". Esto es lo que sucede, por ejemplo, al irradiar la molécula de psoralén con longitudes de onda de más de 320 nm. (Fig. 2 a).

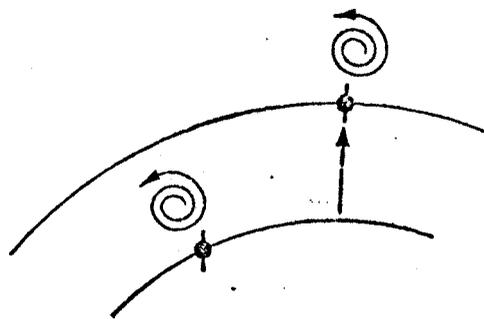
El estado de "singlet excitado", debido al proceso primario, es muy inestable: solo tiene un tiempo de vida de 10^{-9} a 10^{-8} segundos. Rapidamente, el electrón desplazado vuelve al "estado electrónico básico fundamental", y de la misma forma que el electrón capta energía para desplazarse a una órbita más alejada, este mismo electrón deja en libertad idéntica cantidad de energía al volver a su órbita primitiva. La disipación de energía liberada en el tránsito de estado de "singlet excitado" a estado electrónico fundamental (proceso secundario) se manifiesta muchas veces en forma de calor, pero otras veces en forma de fotones de fluorescencia. El electrón que está de vuelta tiene menos energía que la que tuvo a su "nivel de referencia"; la duración de la fluorescencia es demasiado corta para permitir la utilización de energía absorbida. La luz fluorescente posee mayor longitud de onda y por lo tanto, menor energía que la que provocó la excitación. El nombre de fluorescencia se deriva de fluor, pues el fenómeno fué observado por primera vez por Brewster en el espatofluor.

Pero en el desplazamiento de los electrones a órbitas más altas puede suceder que, al elevarse el estado de "singlet excitado", el electrón sufra

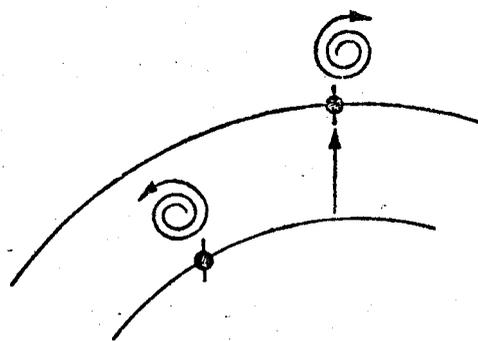
un cambio en la dirección o inversión de su giro habitual. Se constituye en tonces el estado denominado de "tripleta excitada" (b) ("triplet state"). Los electrones de una pareja giran entonces en una misma dirección, creando, por consiguiente, un campo o momento magnético en torno a la molécula (Fig. 2 b).

El electrón en estado de "tripleta" ("triplet state") tiene dificultades para retornar al estado "fundamental", y este retorno consume un tiempo más prolongado que el que es necesario para el paso de los electrones de un "singlet" a su "estado fundamental"; es decir, tiene una vida más larga, aproximadamente, de 10^{-4} , 10^{-3} , al segundo, lo cual desempeña también un papel importante en la transferencia de energía e iniciación de los cambios biológicos que afectan al proceso de fotosensibilización. Además, condicionan cambios en la multiplicidad de la molécula, se produce un descenso de nivel de energía molecular al pasar del estado "singlet" al estado de "tripleta" y, con consecuencia, hay una liberación de energía durante el tránsito de estado de "tripleta" a "estado fundamental", menor que el que se consumió en el tránsito de estado fundamental a estado excitado (proceso de excitación). Se presenta entonces el fenómeno de la "fosforescencia".

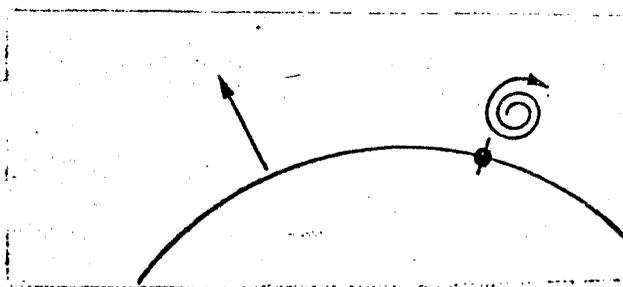
En general, puede decirse que las sustancias que son fluorescentes o fosforescentes, al ser irradiadas en su estado original, dan origen a reacciones fotoquímicas, y cabe esperar de ellas que actúen como fotosensibilizantes. Al parecer, casi todos los agentes fototóxicos (pero no todos los fotoalérgicos) son fluorescentes ya sea directamente en solución o bien al ser absorbidos por una superficie; pero no todos los compuesto químicos fluorescentes son fotosensibilizantes, y hay sustancias no fluorescentes, como el benzoato sódico, que pueden inducir una fotosensibilización. Los estudios de Pathak (1961)(9) han demostrado claramente que la activación de la molécula de psoralén puede producir dos tipos de emisión: la fluorescencia y la fosforescencia.



a)



b)



c)

SINGLET
a)

, TRIPLET
b)

, RAD. LIBRE
c)

FIG. 2

De acuerdo con la ley de Stoke, la longitud de onda de la radiación excitante es mayor que la de la luz fluorescente.

Por otra parte, una molécula capaz de emitir luz fluorescente o fosforescente -es decir, en estado "excitado"-, en presencia de otros compuestos químicos reacciona fácilmente con ellos. En vez de liberar energía mediante la fluorescencia o fosforescencia, puede desdoblarse, descomponerse o transferir la energía a otra molécula, la cual a su vez puede integrarse en una reacción fotoquímica. Los diversos compuestos, tales como eosina, azul de metileno, acriflavina, porfirinas libres, furocumarinas y múltiples agentes químicos que pasan fácilmente al estado excitado al exponerse a la luz, inician también con facilidad reacciones fotoquímicas.

"Formación de "radicales libres" (c).- Si una molécula absorbe energía suficiente, puede llegarse a producir la completa expulsión de uno de sus electrones, lo cual deja a la molécula con un electrón solitario, o no apareado, y con carga magnética activa (Fig. 2 c). Posee entonces lo que se conoce con el nombre de "radical libre" (fotodisociación). En tal estado, la molécula es asimismo muy reactiva desde el punto de vista químico. No debe confundirse "radical libre" con el "ión". Este último, a pesar de poseer carga eléctrica, tiene todos sus electrones apareados y es magnéticamente neutro, lo cual no sucede con el "radical libre".

Transmisión de energía.- Finalmente, la molécula excitada puede transmitir su energía a las moléculas vecinas sin emisión de radiación. Esta transmisión puede ocasionar; o bien una disociación óptica con formación de radicales reactivos de una molécula vecina que consume la energía formada, o bien reacciones químicas ulteriores de las moléculas vecinas que quedan ópticamente disociadas y capaces de conjugarse, produciendo reacciones en cadena.

PARTE III - REACCIONES FOTOBIOLOGICAS NORMALES DE LA PIEL.

REACCIONES FOTOBIOLOGICAS NORMALES DE LA PIEL

Las reacciones que la luz provoca fisiológicamente en la piel comprenden:

1) El eritema actínico: Es la respuesta elemental más importante que la radiación lumínica provoca en la piel. Constituye simplemente un proceso inflamatorio que se traduce clínicamente por un enrojecimiento y a veces incluso por edema y vesiculación. En conjunto se trata pues de una serie de fenómenos que tienen como sustrato la epidermis y la dermis. Esta reacción eritematosa se inicia a la 1-3 horas para alcanzar su máximo a partir de la 8 horas. La reacción eritematosa puede acompañarse de sintomatología subjetiva, local y general (tensión, escozor, dolorimiento, prurito, astenia, febrícula).

Acción espectro del eritema actínico.- Como en todo fenómeno fotobiológico su estudio requiere como dato esencial el establecimiento de la acción espectro del mismo.

Desde Coblentz y Stair (1934)(10), se ha aceptado durante muchos años una curva standard de representación de la acción espectro, considerada como "Standard erythema curve". Según estos datos el eritema se produce por longitudes de onda comprendidas entre los 254 y 320 nm. con unos máximos a 257-260 nm. y otro más significativo 297 nm. La eficacia de la radiación de 257-260 nm. representando un 50% de la de 297 nm. y a 280 nm. un 5%. Con ello la curva standard quedaba establecida de la siguiente forma:

ACCION ESPECTRO DEL ERITEMA ACTINICO

(grafica establecida por COBLENTZ y STAIR en 1934)

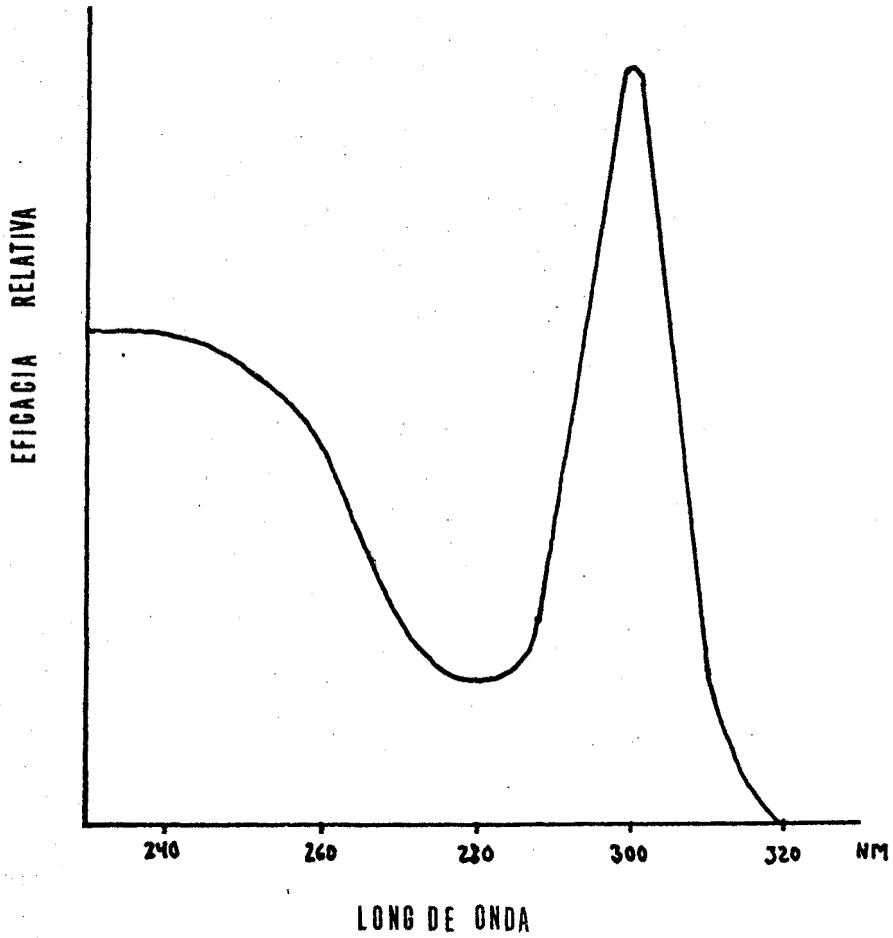


FIG. 3

El umbral eritema para 300 nm. estaría establecido en 25 mJ/seg/cm^2 , aunque las oscilaciones pueden ser considerables debidas a factores individuales, y especialmente a la localización y el área sobre la que se realiza el test.

La capacidad de producción de eritema de las radiaciones superiores a 320 nm. sería 100 veces menor y por encima de los 400 nm. 500 veces menor.

Estos datos standard se han visto modificados por estudios más recientes. Ya entre 1964 y 1968, Johnsons y col. (11), Magnus (12), Everett y col (13), Freeman y col. (14) Berger y col. (15) y Olson y col. (16), demostraron que en realidad la mayor eficacia eritrogénica correspondía no a la banda de 297 nm. sino a la situada entre 250-260 nm. Finalmente en el trabajo de Cripps y Ramsay (17) se estableció que la banda de mayor eficacia relativa para la producción de eritema entre 250-320 nm. es la de 252-260 nm. Subsiguientemente la capacidad eritrogénica desciende considerablemente aunque no se produce un descenso tan marcado a nivel de los 275-280 nm. como se consigna en la curva standard. La disminución de la eficacia es aquí mucho menor siendo la disminución máxima a 275 nm. a las 24 horas y a 280 a las 8 horas.

Por otra parte la longitud más corta que suele encontrarse en la práctica en la superficie terrestre es la de 290 nm. por lo que normalmente la acción espectro de una persona normal se extiende de 290 a 320 nm. siendo en esta banda las longitudes de onda de más eficacia las situadas entre 290-294 nm.

Diferencias de los eritemas provocados por diferentes longitudes de onda.- Las características del eritema provocado por las radiaciones de me-

nos de 280 nm. son distintas a las del provocado por las radiaciones más largas. El hecho fundamental a resaltar en este aspecto es que el eritema provocado por ondas por debajo de 280 nm. es más precoz y desaparece más rápidamente siendo de tonalidad más rosada. Existen notables diferencias en el valor de la dosis MED si se comparan los resultados de las 8 y las 24 horas. Estas diferencias cuantitativas desaparecen sin embargo en las longitudes de onda superiores a los 290 nm. que de hecho son las más significativas en la exploración de la fotosensibilidad.

ACCION ESPECTRO DEL ERITEMA ACTINICO (Curvas semilogaritmica y porcentual establecida por Cripps y Ramsay en 1970)

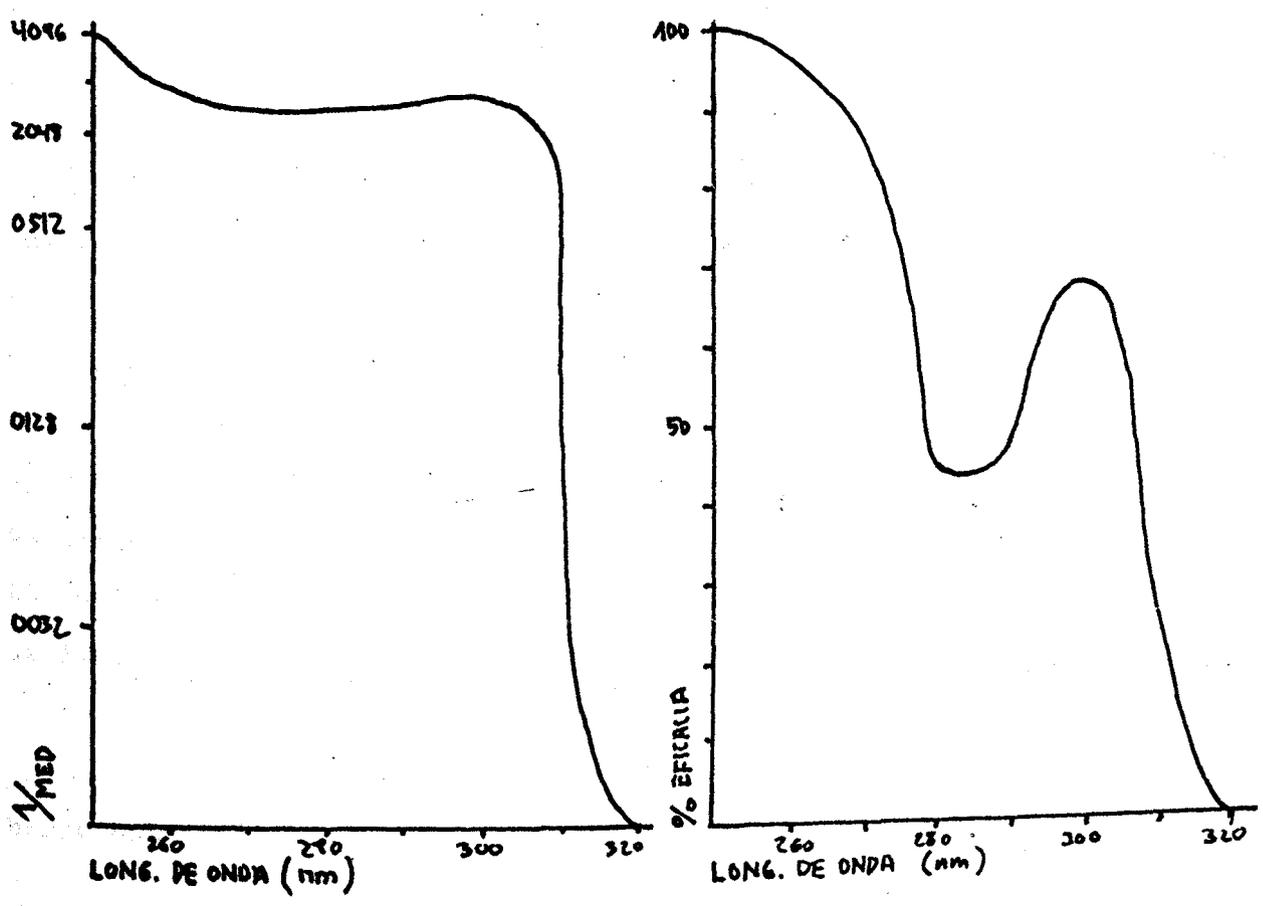


FIG. 4

Patogenia del eritema actínico: Existen pues como vemos dos fases en el eritema actínico: la fase "precoz" y la "tardía". Las reacciones fotoquímicas que condicionan el eritema precoz se desarrollan al parecer en primer lugar en la epidermis donde se liberarían sustancias que posteriormente se difundirían a la dermis, condicionando, a través de unos mediadores, una vaso dilatación a este nivel: No ha sido posible aún confirmar la naturaleza de estos mediadores y lo que parece confirmarse es la real existencia de un mecanismo de difusión de los mismos, al menos para el eritema, de 290-320 nm. En el caso de las longitudes de onda más cortas este mecanismo de difusión no es aplicable y al parecer estas longitudes de onda podrían actuar directamente sobre los vasos.

La fase tardía del eritema actínico sería debida en cambio a una lesión directa de los vasos. Su aparición tardía sería debida al establecimiento progresivo de alteraciones del endotelio vascular que facilitarían el paso de globulinas y/o calicreína con lo que se pondría en funcionamiento el sistema kininas que así mismo también se activaría a nivel intersticial.

También los trabajos de Johnson (18) et al. y Mishima (19) indican la posible acción de mecanismos lisosómicos en el eritema actínico.

Según estos autores la intervención de los lisosomas en el complejo reaccional del "sunburn" con la banda 290-320 nm. vendría determinado por el hecho de que su membrana lipídica puede ser lesionada por esta radiación. Se producen pequeñas lesiones por formación de peróxidos que son tóxicos y que por autooxidación desarrollan una acción en cadena que puede llevar a la total destrucción de la membrana lisosómica.

Ello se demuestra por el aumento de actividad fosfatásica ácida en las horas subsiguientes a la irradiación a nivel de la epidermis.

No todas las células epidérmicas muestran alteraciones por este mecanismo y ello se explicaría por el hecho de que si bien existe lesión lisosómica, ésta no siempre produce la liberación del contenido enzimático del lisosoma, si no que puede inducir la formación de lisosomas secundarios, por lo que las células conservan su apariencia normal.

En el caso de la rotura total del lisosoma se produce la alteración de las células epidérmicas (Sunburn cells) y la liberación de sustancias que difunden hacia la dermis provocando una vasodilatación (estas sustancias mediadoras se suponen serían similares a las aisladas de los lisosomas de los leucocitos).

Se difundirían también pirógenos como los aislados de dichos lisosomas de los leucocitos.

2)

Formación de melanina por la acción de la radiación lumínica y engrosamiento del estrato córneo.

Si bien se había aceptado hasta hace poco tiempo que la neoformación de melanina se producía exclusivamente por la acción de la misma radiación responsable del eritema actínico (290 a 320 nm.), según las investigaciones de Pathak, Riley y Fitzpatrick (1962)(20) en realidad la radiación que produce pigmento se situaría entre los 300 y 650 nm. incluso quizá hasta 700 nm. El examen de biopsias practicadas después de irradiar la piel con U.V. largos y luz visible ha permitido el comprobar la presencia de gránulos de tirosina y melanina neoformados.

La pigmentación cutánea determinada por la luz solar se caracteriza básicamente por la formación de nuevos melanosomas junto con un aumento de la formación de queratinocitos (Fitzpatrick y Breatnach (1963)(21)) (Quevedo (1963)(22)). En los individuos de piel clara se puede observar la

aparición de numerosos melanosomas en estadio IV. Si bien la melanina absorbe de forma global, es decir sin picos marcados, toda la radiación comprendida entre 200 y 2400 nm. a pesar de ello los gránulos de melanina intracelulares tienen una limitada capacidad para proteger a la célula de las lesiones de algunas fotosensibilizaciones. Así Carter y al. (1973)(23) irradiaron células pigmentadas y células no pigmentadas de un melanoma murino a las que se había incorporado trimetilpsoralén tritiado y observaron que la tasa de incorporación de esta sustancia al DNA de las células irradiadas tanto pigmentadas como no pigmentadas era la misma. Otras investigaciones sugieren que la protección que puede determinar la presencia de melanina depende de su estado de dispersión (Carter y al. (1973)(23)) (Klaus (1973)(24)) además de la cohesión de las células en las capas superiores de la epidermis.

Por lo que se refiere a la pigmentación ocasionada por la exposición a la radiación lumínica hemos de tener en cuenta los dos fenómenos siguientes:

a) La pigmentación "inmediata": Esta se puede observar durante la misma exposición o poco después y de forma más evidente en la piel ya pigmentada que es la poco expuesta a la radiación lumínica. Esta pigmentación "inmediata" viene determinada por la acción de longitudes de onda de U.V. largos (300-400 nm.) y se cree que es debida a la acción de la luz en presencia de oxígeno.

b) Pigmentación "retardada": Se observa al cabo de 2 - 3 días después de la exposición a la radiación y es debida a la neoformación de melanina por los melanocitos. La dosis umbral a 300 nm. (banda de máxima eficacia) es del orden aproximadamente de los 100 mW/seg/cm^2 en el individuo normal.

3) Engrosamiento de la epidermis. Esta misma radiación de 300 nm. en dosis más moderadas además de la pigmentación determina el engrosamiento del estrato córneo y es otro mecanismo de defensa de la epidermis frente a la acción de la radiación lumínica.

Probablemente no solo los melanocitos son capaces de absorber la energía lumínica gracias a su contenido melánico sino que también los queratinocitos que también poseen pigmento pueden absorberla. Así podemos observar que los que contienen más melanina se queratinizan con mayor rapidez. Cuando el estrato querático alcanza un grosor suficiente disminuye la cantidad de radiación que llega a los melanocitos que a su vez disminuyen la fabricación de melanina. De esta forma la radiación U.V. interviene en la regulación de la síntesis y transferencia de la melanina y en la velocidad de cornificación. La radiación ultravioleta es la única que contiene suficiente cantidad de energía para determinar estos fenómenos que no pueden ser desencadenados por la radiación visible o infrarroja. (Stanka 1971) (25).

La acción de la luz sobre el pelo y las uñas: Nuestros conocimientos sobre los procesos que la acción de la radiación lumínica determina a nivel de pelo y uñas son reducidos a pesar de que clínicamente se hayan observado las alteraciones que determinan sobre estos sustratos.

La acción de la luz sobre el pelo da lugar a la decoloración distal y alteraciones de las propiedades mecánicas que se traducen clínicamente por tricoptilosis, tricoclasia y tricorrexis o simplemente en forma más leve, por fragilidad simple.

Las experiencias realizadas con lana de corderos han demostrado claramente que la decoloración distal es debida a dos reacciones concurrentes. En primer lugar se puede observar una decoloración amarillenta de los pelos

más claros debida a alteraciones en los aminoácidos (especialmente a nivel de triptofano, pero también en la tirosina y la cistina). La acción espectro de esta reacción sobre el triptofano se situa a 290 -310 nm. y a 254 nm. para la cistina y la tirosina (Inglis y col. 1965 (26)). Después de ésta, una segunda reacción puede dar lugar al encanecimiento total del tallo piloso que sin embargo puede repigmentarse rapidamente. El espectro de acción de esta segunda reacción se situa en 310 - 330 nm. y también entre 430 - 450 nm.

El problema principal en los fenómenos condicionados por la luz a nivel piloso reside en la transmisión de la radiación lumínica a través del pelo. Las experiencias referidas nos permiten suponer que la acción de la luz queda practicamente limitada a la cutícula y las alteraciones condicionadas determinan una mayor protección a las partes más internas del tallo piloso. De todas formas no podemos considerar estas hipótesis como definitivas y no podemos determinar si las reacciones a nivel del pelo son muy diferentes de las condicionadas en la piel, dada la composición química tan distinta.

No poseemos ningún conocimiento sobre la reacción de la queratina ungueal frente a la radiación lumínica y por ejemplo la onicolisis de los cascos de fotosensibilización a las tetraciclinas debe ser considerada como un fenómeno a nivel del lecho ungueal, mas bien que una acción sobre la lámina.

Reacciones crónicas. Las exposiciones prolongadas y repetidas a la radiación lumínica tienen también efectos a largo plazo y constituyen globalmente lo que se denomina proceso de senilización actínica y condicionan la aparición de queratosis y cáncer.

La acción de la luz sobre los tejidos conectivos

Ciertamente la radiación lumínica determina reacciones a nivel de los tejidos conectivos (tejido colágeno o elástico) especialmente a nivel de su componente protéico. Estas reacciones consisten fundamentalmente en la polimerización y reticulación de las macromoléculas fibrilares determinada principalmente por la radiación U.V. larga y la luz visible. Esta reticulación de las fibras colágenas puede condicionar una pérdida de elasticidad, alteración del grado de hidratación y de su comportamiento enzimático.

No estamos en condiciones de afirmar que estas sean reacciones de carácter primario o constituyan simplemente fenómenos consecutivos a reacciones fotoquímicas de otras localizaciones. Ello también es válido para las alteraciones del contenido mucopolisacárido en el colágeno, la disminución de hidroxiprolina y la elastosis actínica. Hyidberg y col. (1959)(27) observaron un aumento de la viscosidad después de la irradiación del ácido hialurónico con la banda 300 nm. Encambio la viscosidad del ácido condroitinsulfúrico no sufrió ningún cambio.

Por otra parte la irradiación con longitudes de onda correspondientes al espectro eritrógeno produce degranulación de los mastocitos.

El efecto de dosis únicas de U.V. sobre el colágeno ha sido objeto de estudio por Bottoms y Shuster (1965)(28), Cooper y Davidson (1965, 1966) (29)(30), Fujimori (1965, 1966) (31)(32), Bottoms, Carter y Shuster (1966) (33), Davidson y Cooper (1967)(34), Raab (1969)(35) y Loell (1973)(36) "in vivo". La administración de una dosis de U.V. da lugar a una disminución del contenido de ácido hialurónico en la dermis. Ello condiciona el aumento del cociente H_2O libre/ H_2O conjugado y por tanto a la alteración de la viscosidad de la dermis.

El resultado de estas experiencias sugiere que la radiación U.V. condiciona la formación de enlaces cruzados y degradación del colágeno. Después de la irradiación la tasa de colágeno soluble ha disminuido "in vitro", (Bottoms y Shuster, 1963 (28); Bottoms, Carter y Shuster, 1966 (33)) pero no "in vivo", con dosis no superiores a 50 J/cm^3 (correspondiente a 1000 MEDs en animales de experimentación). Solamente es posible observar una disminución en el cociente colágeno total/colágeno soluble en los casos de formaciones costrosas graves, como parte de los fenómenos inflamatorios que pueden prolongarse de 3 a 6 días, después de la irradiación que cause degradación del colágeno.

Patología de las reacciones provocadas por la luz.- Estos fenómenos fisiológicos determinados por la interacción piel-radiación lumínica, tiene una traducción histológica que no podemos desconocer, puesto que nos permite valorarlos objetivamente y establecer también comparaciones con las posibles alteraciones patológicas.

¿Cuales son las alteraciones elementales que la radiación lumínica produce en la piel?

En primer lugar en la epidermis y a las 24 horas de administrar una dosis MED, se inician las alteraciones, que consisten en la involución de células aisladas distribuidas irregularmente en la misma. El citoplasma de estos elementos celulares se hace homogéneo, denso, cromófilo, retraído y su núcleo picnótico. Si la irradiación es más intensa (DED) las modificaciones se inician de las 4 a las 8 horas. Estos elementos celulares reciben la denominación de "sunburn cells" (células de quemadura solar). Estas células pierden su adherencia con las células epiteliales que las rodean y puede llegarse a una verdadera autólisis celular. Hay que resaltar que no todas las células de la epidermis presentan alteraciones, estas solo se ven en algunos elementos aislados.

En la dermis a partir de las 24 horas y hasta las 48-72 horas se puede observar la presencia de un moderado infiltrado linfohistiocitario perivascular junto con alteraciones de los estratos más profundos de la epidermis que muestran la presencia de células disqueratósicas.

La tinción con el PAS y también la coloración con lugol (Goltz) permite visualizar las modificaciones más precoces al hacer objetiva una alteración peculiar del glucógeno. Tras la irradiación las células de la capa basal presentan una sobrecarga glucogénica a partir de las 4 horas, alcanzan un máximo a las 12 horas y desapareciendo a las 48.

Este aumento de glucógeno es comparable al que se produce por "Striping". Al mismo tiempo se observa un aumento del número de mitosis en la capa basal de aparición mucho más tardía ya que se manifiesta a partir de las horas 72. Estas alteraciones conducen a la hiperqueratosis orto o paraqueratósica en algunas zonas con edema inter e intracelular más o menos intenso de las células malpighianas.

Tras la aparición de las "células de la quemadura solar" en los espacios intercelulares que las rodean se puede detectar también una importante actividad fosfatasa ácida indicando que en estos puntos se ha producido una alteración lisosómica con liberación de enzimas.

PARTE IV - METODOS DE EXPLORACION FOTOBIOLOGICA

Métodos de exploración.- Para el estudio de la acción de la radiación lumínica sobre la piel, establecimiento de la acción espectro y estudio patológico y tratamiento de las dermatosis condicionadas por la luz, disponemos de una serie de fuentes de radiación lumínica y de técnicas de exploración.

Las principales fuentes de luz son:

- 1 - La luz solar natural.
- 2 - Lámpara de cuarzo caliente (con arco de mercurio) y fría.
- 3 - Lámpara de arco de carbón.
- 4 - Lámpara de arco de xenon.
- 5 - Lámparas fluorescentes tipo sunlamp.
- 6 - Lámparas fluorescentes de luz negra.
- 7 - Luz de Wood.
- 8 - Lámparas fluorescentes corrientes.
- 9 - Lámpara de Kromayer.
- 10 - Lámpara de filamento de tungsteno.
- 11 - Lámpara de cuarzo yodo.
- 12 - Lámpara germicida.
- 13 - El monocromator.

1. La luz solar natural.- En realidad es el mejor medio de exploración de las fotodermatosis. No hay ningún foco artificial que pueda compararsele, ya que posee un espectro continuo de emisión entre los 290 y los 1850 nm., y todas las fotodermatosis están evidentemente causadas por longitudes de onda existentes en el espectro de la luz solar. Hay varios autores, entre ellos Epstein (1966)(37) que usan cada vez con mayor frecuencia los test con luz solar, los cuales tienen la ventaja de reproducir exactamente las condiciones en que se desencadena la enfermedad. Con los test de luz solar pueden utilizarse diversos filtros (Gordon, 1963)(38).

No es difícil construir una cabina adecuada en la que la irradiación se pueda efectuar a través de un cristal de ventana. La desventaja de que la exposición es calurosa se puede evitar climatizando convenientemente la cabina. El tiempo de exposición es de unos 20 min. a una hora. El momento ideal para la exposición es el mediodía. En verano las pruebas pueden efectuarse al aire libre, aplicando la substancia objeto del test sobre el dorso de la mano, frente u oreja.

2. Lámpara de cuarzo caliente (arco de vapor de mercurio a alta o baja presión)..- Es la fuente de luz más utilizada para las exploraciones de rutina a pesar de sus inconvenientes; es relativamente barata y requiere poco tiempo de exposición. Existen varios tipos de estas lámparas en el mercado, Epstein (37) recomienda las abiertas y a todas ellas puede adaptarse un dispositivo para filtros.

Suministran radiaciones entre 280 nm, y 320-365 nm. La energía emitida así como el espectro depende de la presión del vapor de mercurio. La mayoría de ellas tienen picos de emisión a 297, 313, 365 nm. es decir la zona del eritema actínico (Fig. 5). Los tiempos requeridos para provocarlo son relativamente cortos, de 30 a 60 seg. a 46 cm. de distancia foco-piel.

El espectro es discontinuo con otras bandas de 254, 265, (297), 303, (313), (465) generalmente aunque existen diferencias entre los modelos.

A pesar de su fácil manejo estas lámparas tienen las siguientes desventajas:

a) Si bien son excelentes para los tests que requieren radiaciones entre 291 y 310 nm. su emisión variable, en banda discontinua e incompleta con picos de energía determinados y baja energía en otros, hacen que el paciente no reciba muchas veces la longitud de onda adecuada.

b) La mayoría de ellas tienen una emisión muy escasa en la zona de los U.V. largos que solo representa un 2%, por lo que su empleo en la exploración de determinados procesos es inadecuada (reticuloide actínico).

c) Por otra parte emiten longitudes de onda más cortas de la que habitualmente llegan a la superficie terrestre (por debajo de los 280 nm.) dependiendo estas emisiones del material del que esté fabricado el tubo, pudiendo llegar, si este es de cuarzo, a producir reacciones eritematosas falsas, provocadas por las longitudes de 260 nm. que no corresponden realmente al eritema solar.

Estos inconvenientes pueden obviarse recubriendo con fósforo el cristal del tubo. De esta forma las bandas de emisión se amplían hacia longitudes de onda más largas y se hacen menos discontinuas.

Por otra parte estas lámparas tienen un período de vida relativamente corto.

2. Lámpara de cuarzo fría.— Constituye la fuente de luz más inadecuada para la exploración, ya que un 85% de su emisión está situada alrededor de los 253 nm., longitud de onda "no fisiológica". El tiempo de exposición para el MED es de 30 seg. a 25 cm. de distancia foco-piel.

3. Lámpara de arco de carbón.— Es una fuente de luz muy adecuada ya que produce un espectro de emisión más o menos continuo entre los 220-400 y 700 nm., resultando una fuente de radiación potente en la zona de los U.V. largos. Su emisión se parece mucho a la de la luz solar con un espectro prácticamente continuo que únicamente depende en sus pequeñas variaciones de la incorporación de determinados metales al carbono. Como fuente de luz para la exploración resulta mucho más fiel que la lámpara de arco de mercurio.

Entre sus desventajas se encuentra sin embargo el hecho de que el espectro de emisión se pueda alterar según los metales incorporados, como ya se ha mencionado. Además:

- a) No puede estandarizarse o es difícil hacerlo.
- b) No pueden efectuarse exposiciones prolongadas, porque los electrodos se consumen.
- c) Debe ventilarse porque produce emisión de gases tóxicos.
- d) La emisión de infrarrojos es excesiva.

Todas estas circunstancias la hacen inadecuada para la clínica. Existen modernamente modificaciones de esta lámpara como las que suministran la Bausch Lam. Co. de Rochester (Mechanical Feed Arc Illuminator), la Unión Carbide (Sunshine Carbon) y la National Carbon Co. Estas lámparas ofrecen las siguientes ventajas: poseen localizadores, soportes para filtros y están construidas de materiales no termoconductores, lo que permiten usarlas en contacto directo con la piel.

4. Lámpara de Xenon.- Esta fuente de luz introducida por el Prof. Kimming de la Clínica de Dermatología de Hamburgo es en la actualidad imprescindible en todo departamento de Fotobiología. Contiene una atmósfera de un 80% de xenon y un 20% de mercurio. El suministro de energía es variable según los modelos, pero todos ellos producen una emisión espectral muy continua, similar al del arco de carbón y está considerada generalmente como la mejor imitación actualmente existente de la luz solar utilizable en pruebas clínicas. La mayoría de modelos que existen en el mercado son caros y requieren un equipo auxiliar también considerable, sobre todo en el caso de las más potentes de 1 a 2'5 Kw. El empleo fundamental de esta fuente de luz se ha realizado a través de los monocromadores, instalaciones que aún

encarecen más este complejo de producción de radiación.

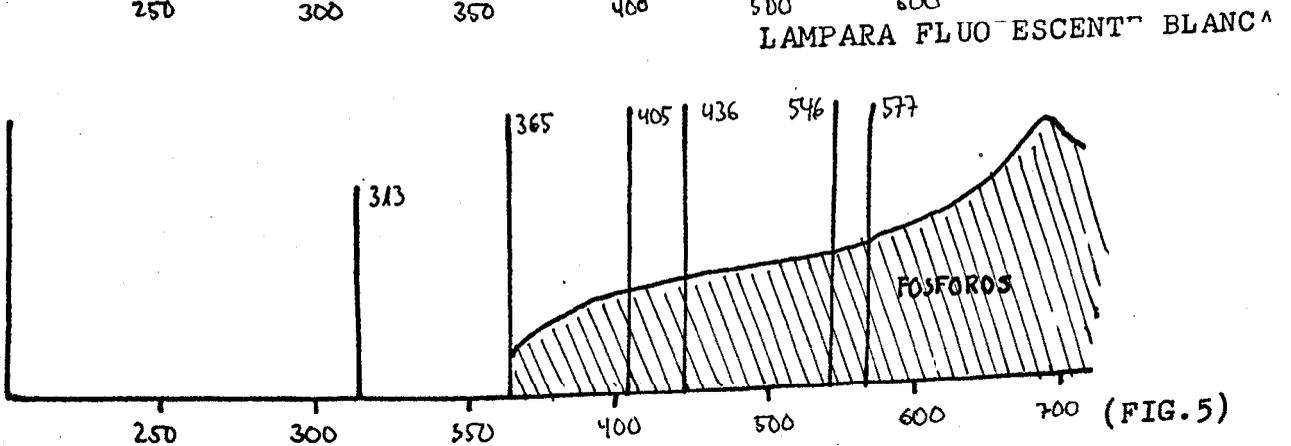
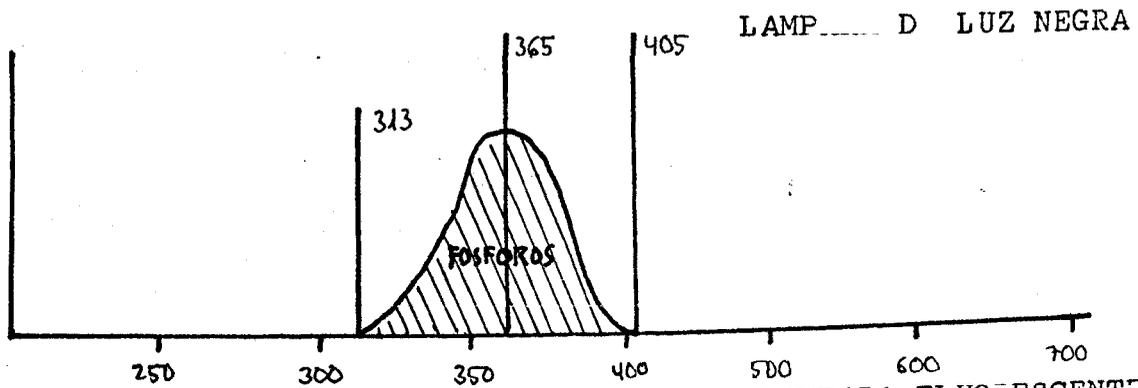
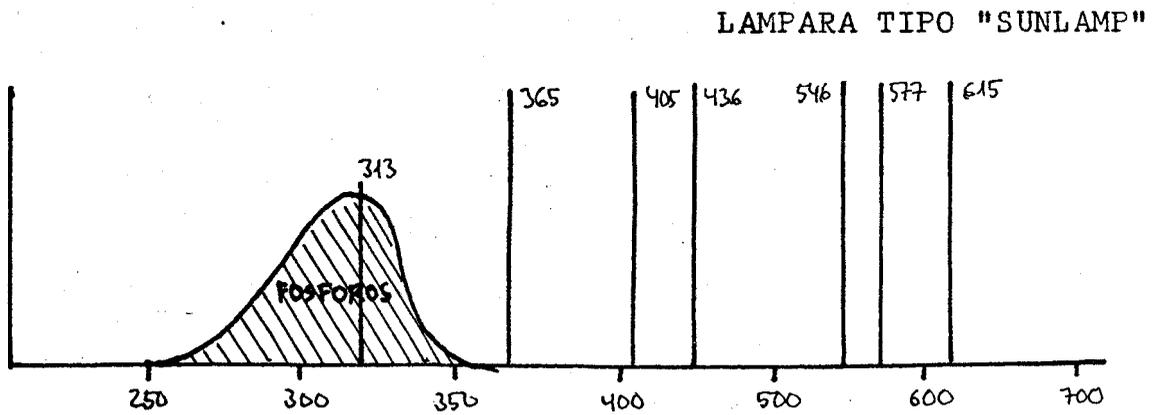
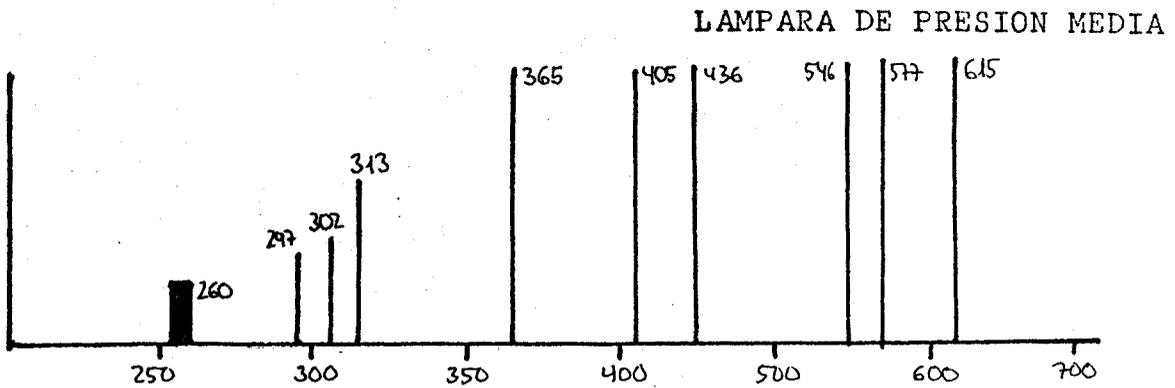
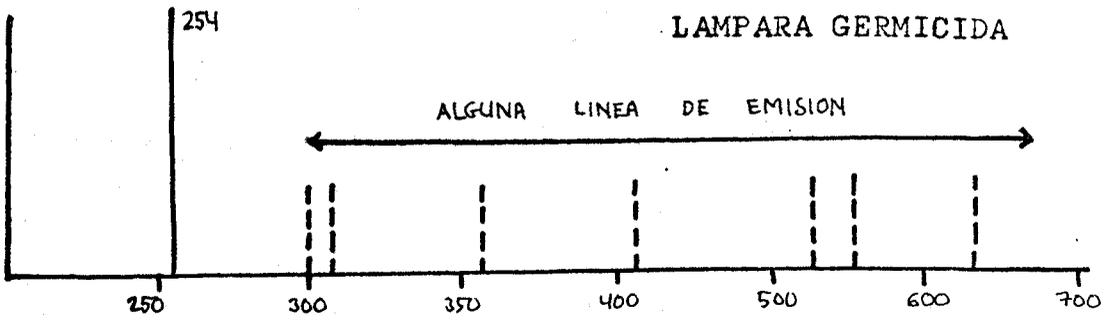
Se puede utilizar también combinada con filtros, con lo que resulta más asequible, así p. ej. Berger (1969)(39), recomienda el Solar Simulator con una lámpara de Xenon de 100-150 W, muy manejable y asequible que con una gama de filtros adecuados puede considerarse como una fuente de luz para exploración clínica casi perfecta. El MED en estos sistemas se situa al rededor de los 5-20 seg. a una distancia foco-piel de 25'4 cm.

5. Lámparas fluorescente tipo "sunlamp".- Estas lámparas de arco de baja presión de mercurio empleadas en departamentos de fisioterapia, tienen la propiedad de que en las mismas el fósforo de la cubierta transforma la emisión del arco de mercurio a baja presión (254 nm.) a la luz fluorescente de la banda eritrógena fisiológica (280-320 nm.), con un pico de emisión en 313 nm. dentro de una zona de emisión continua que va desde los 280 nm. a los 380 nm.

Sus ventajas son su baratura, fácil manejo y estandarización y su fácil aplicación para el fototest en las zonas del espectro eritrogénico y para las pruebas de provocación simple y para la exploración de las erupciones polimorfas lumínicas. En terapéutica se emplean habitualmente para el tratamiento de psoriasis.

Existen varios tipos comerciales, el FS Westinghouse, p. ej. Se utilizan solas o asociadas en bancos de luz a las lámparas fluorescentes de luz negra, cubriendo así muy adecuadamente para las pruebas de fotopatch, tanto la banda eritrógena (280-320 nm.) como los U.V. más largos (320-450 nm.).

EMISION DE RADIACIONES DE LAS LAMPARAS DE VAPOR DE MERCURIO



LONG. DE ONDA (NM)

(FIG. 5)

Los bancos de luz combinados pueden construirse según diferentes modelos: así Osmunsen (40) utiliza dos tubos FS Westinghouse junto a dos tubos de luz negra FT General Electric, o bien 6 tubos de cada combinados; estos bancos se pueden emplear también asociados a un filtro de cristal de ventana que elimina las radiaciones por debajo de 320 nm. evitando el eritema actínico y quedando una banda de cobertura muy adecuada para la exploración de sensibilización a los fotoalergenos habituales.

El MED de las lámparas fluorescentes tipo sunlamp se situa en 90-120 seg. a una distancia de 25 cm.

6. Lámparas fluorescentes de "luz negra".- Estas lámparas tienen un recubrimiento de fósforo especial que transforma la emisión también aquí, de arco de baja presión de mercurio (254 nm.), en radiaciones de 300 a 400 nm (320-450 nm.) con un pico de emisión a 350-365 nm. El hecho de que su emisión caiga bruscamente después de los 400 nm. elimina la posibilidad de su acción en la mayoría de fotodermatitis (no produce eritema) pero en cambio son útiles para otros objetivos. (Fig. 5).

Sus ventajas residen en el hecho de que son lámparas de poco coste, de fácil instalación y estandarización y muy adecuadas para los fotopatch tests aunque los tiempos de exposición requeridos sean considerables (30 min. a 30 cm. foco-piel).

Pueden emplearse en bancos de varios tubos de mayor o menor longitud. Existen diversas compañías productoras, Westinghouse, Sylvania, General Electric o Phillips.

7. Lámpara de Wood.- Es una fuente de luz que se obtiene fácilmente y que resulta imprescindible si no se dispone de otras lámparas más completas. Muy recomendada por Jillson, resulta indispensable para determinadas

fotodermatosis como por ejemplo las provocadas por los psoralenes y otros agentes fotosensibilizantes que requieren un screening por encima de los 320 nm. También sirve para activar las lesiones de protoporfiria eritropoyética y también en general para las fitofotodermatitis de contacto. En realidad consiste en una lámpara de arco de vapor de mercurio de alta presión con cubierta de cristal con óxido de níquel y fósforo. Suministra radiaciones de alrededor de 340-450 nm. con un pico a 365.

Las ventajas de esta lámpara residen en que es económica, estable y constituye una fuente de luz adecuada para el screening de porfirinas y tiñas. Para otras utilizaciones puede completarse con otras lámparas. Para fotopach los tiempos de exposición son prolongados.

6. Las lámparas fluorescentes corrientes.- Son de uso corriente en la iluminación de las casas y pueden tener cierta utilidad en los tests fotobiológicos clínicos. Los tipos son muy variados dado el gran número de fabricantes que los producen, siendo sus emisiones algo distintas. En general debemos considerar que su espectro de emisión contiene con variaciones picos a 297, 302, 313, 365, 405, 436 (Fig. 5). Si bien los dos primeros picos podrían tener una mayor importancia por su mayor actividad biológica, en la práctica pueden descartarse. No ocurre lo mismo con las emisiones de 313 y 365, que dada su cantidad pueden determinar reacciones de sensibilización en determinados pacientes, en las condiciones de iluminación habitual en una casa, no así con los primeros picos, que requerirían en todo caso una mayor proximidad del foco. Las longitudes más largas emitidas pueden tener también utilidad en determinados casos de urticaria solar, reticuloide actínico o incluso en la porfiria. Los tiempos de exposición deben ser prolongados y la distancia muy corta, más aún si se emplean determinados filtros.

9. Lámpara de Kromayer.- Es una lámpara de arco de alta a media presión de mercurio enfriada por aire o agua. Es una lámpara eficiente, práctica, rápida en el manejo, puesto que los tiempos de exposición necesarios son cortos y es útil tanto para el fotopatch test como para los casos de erupción polimorfa lumínica. Su espectro de emisión es discontinuo conteniendo picos a 254, 265, 297, 303, 313, 365. El MSD es de 2 a 6 seg. Puede emplearse en contacto o a distancia mínima (Epstein)(36).

10. Lámpara de filamento de tungsteno.- Solo puede utilizarse limitada mente puesto que su emisión es casi absolutamente roja o infrarroja. Su emisión violeta o ultravioleta es escasa.

11. Lámpara de cuarzo-yodo.- Tiene un espectro de emisión similar a la luz fluorescente negra, pero con mayor intensidad en la emisión, no resulta practicamente utilizable.

12. Lámpara germicida.- Constituye una lámpara de arco de mercurio a baja presión, construida con un cristal muy purificado sin recubrimiento de fósforo o incluso la cubierta puede ser de cuarzo como en las de la casa "Hanovia". Su emisión puede considerarse como practicamente monocromática a 254 nm. Su utilidad es puramente industrial y científica, siendo ocasionalmente de utilidad para la dermatología, aunque esta longitud de onda no esté contenida en la emisión solar que llega a la superficie terrestre.

13. El monocromator.- La meta fundamental en la exploración fotobiológica es la determinación de la acción espectro, como ya hemos indicado y como elemento de exploración que resume todas las posibilidades que nos ofrecen la multiplicidad de fuentes de luz artificiales, tenemos el llamado monocromator, que tiene como objetivo fundamental el establecimiento de la acción espectro empleando con un rendimiento máximo estas posibilidades al

permitir explorar a los enfermos con bandas de amplitud mínima (monocromáticas) y de energía conocidas.

Inicialmente los monocromadores utilizaron lámparas de arco de mercurio pero realmente el monocromator requiere una fuente de espectro más continua, que correspondería a la lámpara de arco de carbono, actualmente mucho mejor a la lámpara de xenon de gran intensidad. Los distintos autores que han empleado estos aparatos han establecido dos variedades fundamentales, los monocromadores de prisma y los monocromadores de difracción.

Los esquemas de construcción de los monocromadores son diversos y para ejemplarizar estos tipos tenemos por ejemplo el monocromador de prisma construido por Magnus y Porter (41), constituido por un potente foco lumínico (lámpara de Xenon XBO 2000), un condensador que concentra la emisión de la lámpara sobre un "entrance slit", la luz transmitida entonces por espejos paraboloides a través de un prisma de agua llega a una "hendidura de salida" que es el punto que se utiliza para aplicar la radiación sobre la piel del enfermo.

El monocromador de Sayre utiliza como fuente de luz una lámpara de 2'5 Kw cuyo haz lumínico es enfocado sobre un monocromator de difracción tipo Busch y Lomb.

Sobre los esquemas de estos dos monocromadores más simples se han elaborado posteriormente aparatos más sofisticados, como p. ej. el de Cripps y Ramsay (1970)(17).

El monocromator en general, como el elaborado por los autores mencionados, intenta obtener cuatro ventajas importantes, a saber, una banda de emisión amplia, un poder de resolución máximo, potencia y mínima focalidad. En cualquier caso tanto el monocromador de prisma como el de difracción

LAMPARAS DE XENON

son satisfactorios, aunque en ambos casos el mejor resultado se consigue con el Monocromador, el evitar que en el foco se quemara el material

que las propiedades. Este problema se ha intentado resolver

don

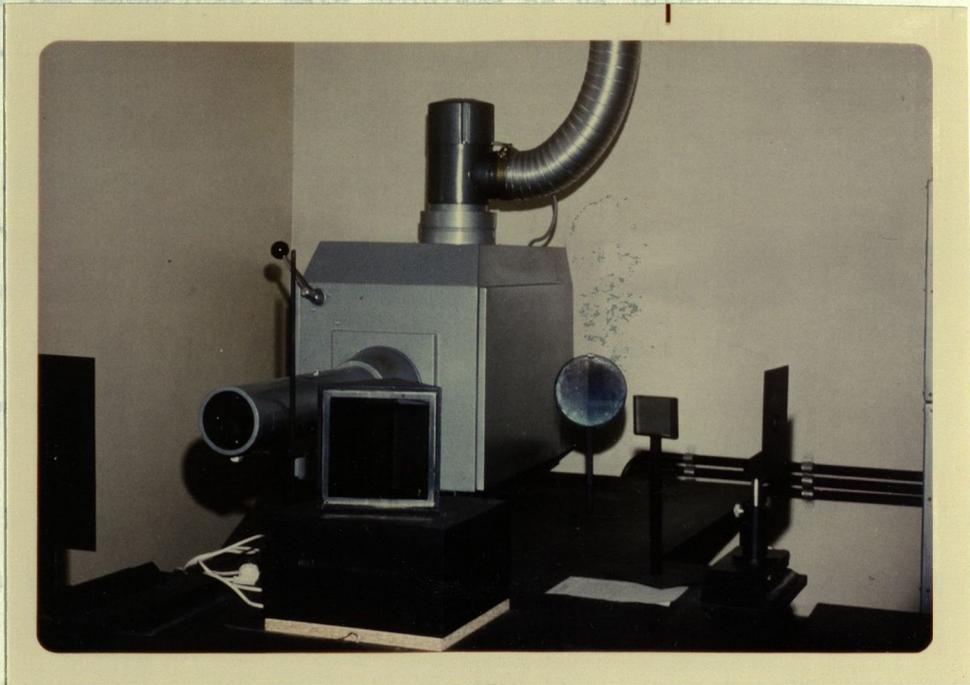
con

ant

so.

de

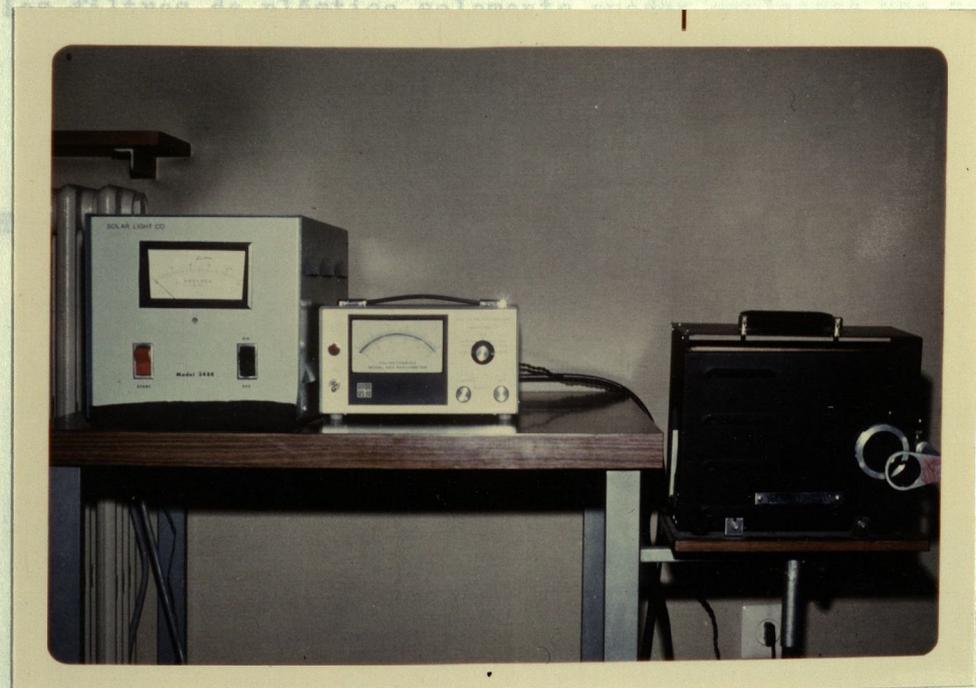
con



Los filtros de vidrio o cuarzo tienen el inconveniente de que

unos de ellos son lábiles.

Solar Light Simulator



con

FIL

con

con

con

con

2	5G 18 (1 mm.) + V6 3 (3 mm.)
24	5G 18 (2 mm.)
19	5G 18 (1 mm.)
25	5G 18 (0.5 mm.)
33	5G 17 (12 mm.)
47	5G 17 (8 mm.)
48	5G 17 (5 mm.)

son satisfactorios, aunque en ambos casos el mayor problema es el de la f_{θ} calidad, es decir, el evitar que en el foco se mezclen otras radiaciones que las escogidas. Este problema se ha intentado resolver con un monocromador doble de prisma y/o de difracción.

FILTROS.- Los filtros pueden dividirse en dos grandes grupos: los de absorción y los de interferencia. Hay filtros de absorción constituidos por materiales diversos, gelatina, plástico, tipos de vidrio distintos y cuarzo. (Mylar, Corning, Schott, Hannau). Siendo los mejores los fabricados en Alemania o Estados Unidos (Jena Glassverk Schott, Corning Glasswork).

Los filtros de gelatina coloreada se emplean solamente para trabajar con el espectro visible, aunque pueden transmitir radiaciones U.V.

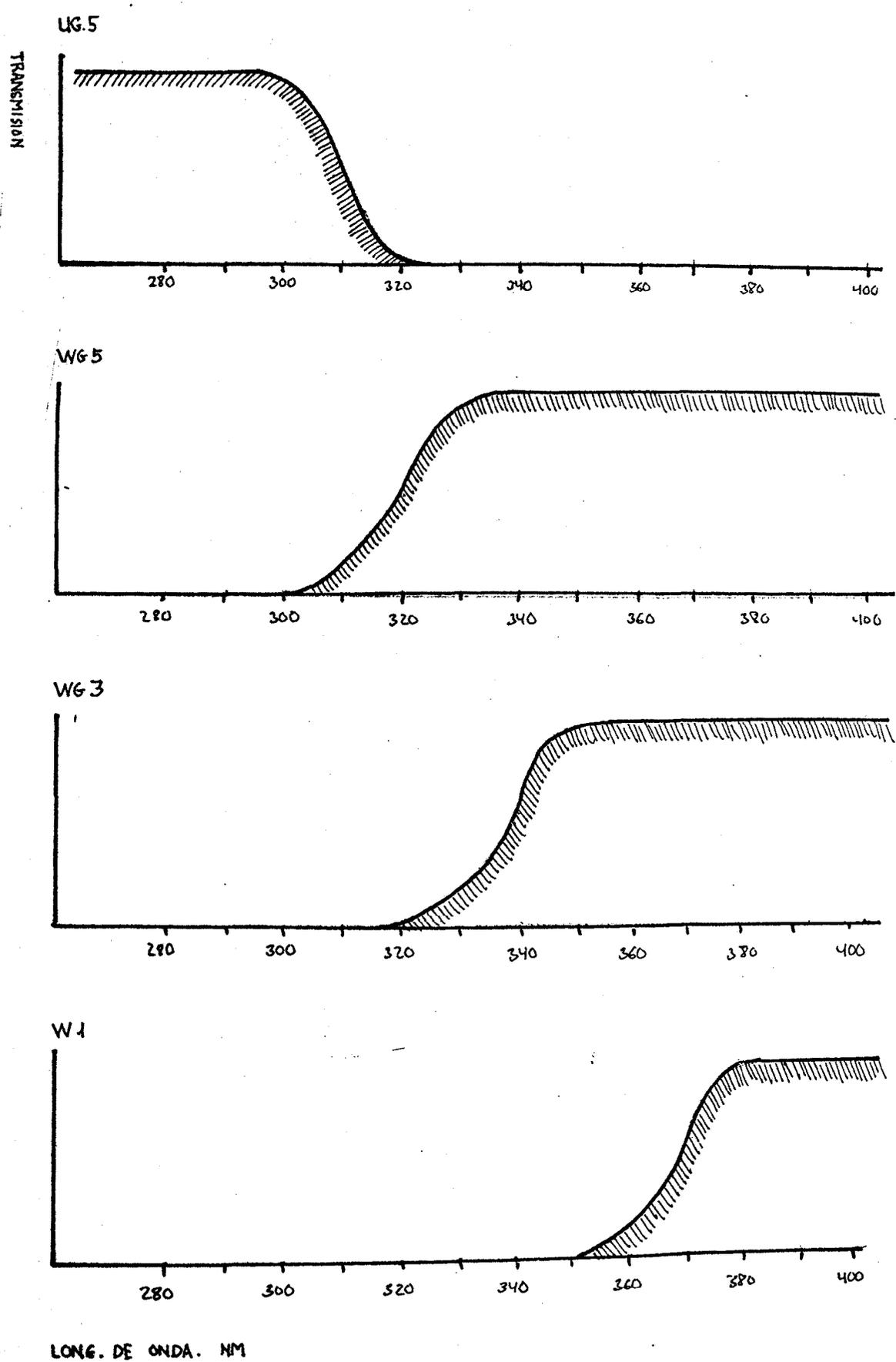
Los filtros de vidrio o cuarzo tienen el inconveniente de ser caros y algunos de ellos son lábiles.

Los filtros de plástico solamente pueden emplearse una sola vez, aunque son más económicos.

FILTROS

Longitud de onda en nm. λ_0	Apropiado para la filtración de la línea de mercurio λ en nm.	Grado de transmisión en % λ_0	
318	313	8	UG 11 (4 mm.) + GG 19 (4 mm.)
366	366	19	UG 11 (1 mm.) + GG 18 (0,5 mm.)
390	405	10	UG 1 (1 mm.) + GG 13 (4 mm.) + BG 12 (2 mm.)
415		14	BG 2 (2 mm.) + GG 4 (2 mm.) + BG 12 (2 mm.)
460	436	16	BG 12 (4 mm.) + GG 5 (4 mm.)
465		44	BG 12 (1 mm.) + GG 5 (4 mm.) + BG 19 (1 mm.)
500		42	BG 7 (2 mm.) + GG 11 (1 mm.) + BG 19 (1 mm.)
548	546	56	BG 18 (3 mm.) + BG 20 (7 mm.) + OG 1 (2 mm.) + BG 19 (1 mm.)
555		25	VG 8 (3 mm.) + OG 5 (1 mm.) + BG 19 (1 mm.)
578	578	2	BG 18 (1 mm.) + VG 3 (3 mm.) + OG 3 (1 mm.) + BG 19 (1 mm.)
595		24	BG 18 (2 mm.) + OG 3 (1 mm.) + BG 19 (1 mm.)
630		18	BG 18 (1 mm.) + RG 1 (1 mm.) + BG 19 (1 mm.)
645		25	BG 18 (0,5 mm.) + RG 2 (1 mm.) + BG 19 (1 mm.)
655		33	BG 17 (12 mm.) + RG 2 (2 mm.)
685		47	BG 17 (6 mm.) + RG 5 (2 mm.)
720		40	BG 17 (6 mm.) + RG 8 (2 mm.)

ESQUEMA DE LA TRANSMISION DE LOS FILTROS EMPLEADOS HABITUALMENTE EN LAS EXPLORACIONES FOTOBIOLOGICAS



(FIG. 6)

Los mejores filtros suministrados se construyen con determinados grados de transmisión, reflexión y características de conservación. Asimismo, se pueden efectuar diversas combinaciones para obtener radiaciones monocromáticas de determinadas longitudes de onda.

Recientemente se han introducido los filtros de interferencia para el estudio del espectro ultravioleta y su empleo práctico todavía no está estandarizado, aún cuando transmiten bandas mucho más estrechas que los filtros de absorción, su transmisión es mucho más reducida. Dado que su fabricación requiere gran cuidado, su costo es elevado y son lábiles al calor.

Con una batería de filtros como la esquematizada, se puede trabajar perfectamente en cualquier departamento de fotobiología.

Pero en la práctica corriente, con frecuencia sólo se suelen emplear filtros para el diagnóstico e investigación corriente de las fotodermatosis:

a) El cristal de ventana de 3 mm. para eliminar las longitudes de onda menores de 320 nm.

b) Filtros Corning que eliminan las longitudes U.V. medias e infrarrojas.

Los filtros adecuadamente seriados permiten incluso llegar a establecer perfectamente una acción espectro.

Las características de todos los filtros deben ser controladas mediante espectrofotómetros (p. ej. Unicam S.P. 800) para confirmar las características que indica la firma suministradora y además dada su labilidad deben ser controlados periódicamente.

MEDICION DE LA IRRADIANCIA.- Para medir la cantidad de radiación que recibe un enfermo o emite una fuente de luz, pueden utilizarse tres tipos de detectores: físicos, químicos o biológicos. En realidad los únicos realmente válidos son los físicos. Se utilizan las termopilas (tipo Hilger-Wal te p.ej.) que permiten valorar a través de un galvanómetro la intensidad energética emitida mediante una operación relativamente sencilla estableciéndose la irradiancia en unidades de potencia por unidad de superficie y tiempo. La termopila es pues un instrumento imprescindible para un departamento de fotobiología. (Fig. 6).

Puesta en práctica de la exploración fotobiológica "in vivo"

La exploración de la sensibilidad a las radiaciones lumínicas es un capítulo que en la actualidad ha adquirido una complejidad considerable tanto por la ampliación de medios de que se puede disponer como por la cantidad de información que permite obtener de los enfermos.

Este estudio incluye en este momento una serie muy amplia de exploraciones, las más importantes son:

- Determinación del umbral de eritema y suberitema actínico.
- Determinación del MED equivalente.
- Respuesta al DED.
- Test fotointradérmico.
- Fotopatch test.
- Exploración con luz fluorescente.
- Transmisión pasiva y transmisión pasiva invertida.
- Test con cristal de ventana.
- Determinación de la acción espectro.
- Degradación de fotosensibilizantes por la luz y su acción espectro.
- Prueba de provocación con papel de celo.
- Otras exploraciones.

a) Respuestas eritematosas con luz policromática o monocromática. Determinación del MED y del SED..- Puede efectuarse de dos formas:

1) Investigando la dosis eritema mínima (MED o la dosis suberitema SED) con exposiciones seriadas de duración gradual, o bien, 2) comparando la totalidad del eritema después de una dosis standard. El primero de los dos métodos es el preferido y prácticamente el único usado.

Para la determinación del MED se procede de distinta manera según si la lámpara empleada permite exposiciones simultáneas múltiples o exposiciones únicas. En el primer caso se coloca sobre la zona a utilizar como área de exploración una pantalla de material opaco (cartón negro p. ej.) con diversas ventanas que se van tapando sucesivamente una vez encendida la lámpara e iniciada la exposición, a intervalos regulares de forma que se produzca una gradación sucesiva de exposiciones (5, 10, 15, 30, 45, 60 seg. etc.). A las 24 horas se efectúa la lectura observando en qué momento ha aparecido el eritema, lo que constituye la dosis eritema mínima. Esta dosis se compara con la obtenida en un promedio de individuos considerados sanos con la misma fuente de luz y en las mismas condiciones y se deduce de ello las alteraciones que el sujeto explorado puede presentar (Fig. 6).

Si la lámpara utilizada solo permite una sola exposición, se procede de forma similar irradiando con dosis de tiempo progresivas, distintos campos de igual superficie y a la misma distancia estableciendo de esta forma el mismo patrón de exposiciones.

Para valorar de forma correcta los resultados obtenidos en la determinación del MED, deben tenerse en cuenta los siguientes extremos:

1) La prueba debe efectuarse siempre sobre la misma superficie de piel. Es preferible utilizar una región del cuerpo no sujeta habitualmente a irra

diación (región lumbar, región glútea) con objeto de evitar errores provenientes del bronceado y otros mecanismos de protección que tiene la piel.

2) La piel a examinar debe limpiarse con acetona para eliminar lípidos y sudor que podrían absorber radiación.

3) Debe utilizarse siempre la misma lámpara en sujetos normales y en pacientes objeto de exploración.

4) La intensidad de la emisión de la misma lámpara debe ser uniforme durante toda la exposición y la misma en cada test. Hay que evitar las alteraciones en la red de suministro, pueden incidir en la emisión de la misma. Es preciso por tanto comprobar antes de cada exploración mediante las mediciones correspondientes que la energía de la emisión es la adecuada.

5) La intensidad de la emisión no solo debe comprobarse cuando se emplean radiaciones policromáticas, sino también individualmente en cada banda cuando se emplean radiaciones monocromáticas. De esta forma se pueden evitar los errores derivados del envejecimiento de las fuentes de luz artificiales, por metalización, suciedad, por contacto con las manos del que las manipula. Estas alteraciones suelen afectar más a las longitudes de onda corta que a las largas.

6) Las reacciones deben ser observadas siempre por la misma persona y en las mismas condiciones.

7) El MED aparece tras un período de latencia de 8 a 14 horas.

b) MED equivalente.- Si partimos del principio de que la mayor parte de fotodermatosis están causadas por las radiaciones comprendidas entre los 330 y 400 nm. en la región de los U.V. largos y en algunos casos con exten

siones a la luz visible, se deduce fácilmente que puede simplificarse la interpretación de los resultados eliminando las radiaciones que producen el eritema actínico normal; la forma más fácil de hacerlo es interponiendo un filtro de cristal de ventana que impide el paso de los rayos por debajo de 320 nm.

Epstein (36) define el MED equivalente como la cantidad de luz filtrada que corresponde en intensidad a la dosis MED promedio de la lámpara en la emisión sin filtrar en un grupo de individuos sanos. Ello permite trabajar a estas longitudes de onda con dosis ya preestablecidas sin necesidad de efectuar cada vez la determinación del MED, ya que a diferencia de las longitudes no filtradas en cuya reacción puede haber grandes diferencias individuales, en las longitudes de onda filtrada, la respuesta suele ser más constante.

Las exposiciones establecidas en estos casos oscilan entre los 30 y los 90 MED según los autores y las fuentes de luz utilizadas, aunque en cualquier caso lo que se trata de conseguir es una técnica de exploración más rápida.

o) Reproducción de las lesiones (DED) mediante la luz policromática o monocromática.- En algunas fotodermatosis cabe intentar la reproducción de las lesiones específicas mediante la administración de dosis acumulativas de radiación, es decir, dosis más elevadas. Las siglas DED corresponden a "delayed erythema dose", puesto que el fenómeno suele traducirse por lesiones objetivamente eritematosas de aparición tardía.

Antes de proceder a esta prueba debemos establecer el MED del paciente. Una vez conocido éste se suministra una dosis de 2 a 10 MED's (habitualmente 8 MED) en forma fraccionada y en periodos separados por intervalos de 24 horas, aplicándose la radiación sobre la misma localización.

Las lesiones específicas se desarrollan tardíamente (entre 4 a 12 días), siendo morfológicamente diversas según la entidad clínica a que correspondan. Por ejemplo en la erupción polimorfa lumínica en la que puede reproducirse una lesión morfológicamente idéntica, las lesiones provocadas por el DED serán eritemato-papulosas.

En estos casos hay que evitar siempre las posibles confusiones con los fenómenos de Köbner provocados por la luz, que pueden producirse en diversas dermatosis (psoriasis, prurigo nodular, etc.).

d) Test fotointradérmico.— Test combinado para la exploración de sensibilizaciones producidas por sustancias diversas. Para su práctica se procede a inyectar intradérmicamente la sustancia problema e irradiar posteriormente el punto de inyección con una dosis MED equivalente y dejando otra intradérmico control sin irradiar. La exploración puede efectuarse con luz monocromática o luz filtrada con filtros seriados. Así mismo puede utilizarse esta prueba como control de la acción de los diversos filtros solares utilizables terapéuticamente.

e) El fotopatch test.— En realidad es el equivalente de la anterior pero con prueba epicutánea en lugar de intradérmica. Es la técnica empleada habitualmente para la exploración de fotosensibilizaciones por contacto.

La prueba se efectúa como test de rutina utilizando una serie de epicutáneas standard con las sustancias fotosensibilizantes más habituales, que se disponen sobre la espalda en forma de dos columnas simétricas idénticas. A las 24 horas de su aplicación se levanta una de las series que es inmediatamente irradiada, dejando la serie control sin irradiar y adecuadamente protegida. Posteriormente la serie irradiada se vuelve a cubrir para evitar cualquier posterior irradiación "pirata" que pudiera modificar la standarización de la prueba. La irradiación se efectúa con dosis MED equivalentes, habitualmente de radiaciones comprendidas entre los 320-400 nm.

En la interpretación de los resultados del fotopatch test hay que tener en cuenta lo siguiente:

a. Si hay positividad de la prueba irradiada con negatividad del test simple cubierto no irradiado, la prueba puede considerarse como positiva.

b. También puede considerarse como positiva la prueba si es más intensa la reacción en el patch irradiado que en la prueba cubierta.

c. Si una de las pruebas es anormal, deben continuarse las investigaciones para determinar o eliminar la posibilidad de que esta positividad sea la consecuencia de la acción de un irritante primario o debido a una dermatitis de contacto.

d. Si la prueba no es clara y hay dificultades para determinar si se trata de una reacción fototóxica o fotoalérgica, la práctica de una biopsia a las 24 horas de practicado el test nos ayudará a establecer la distinción.

e. Al quitar los parches a las 24 horas o a las dos horas debe protegerse cuidadosamente de la luz el otro lado con un material completamente impermeable a toda clase de radiaciones para evitar lo que Epstein (42) llama reacciones "enmascaradas" provocadas por radiaciones que atraviesan los tejidos, papeles y cartón (U.V. largos).

f. Por otra parte debemos tener en cuenta que una pequeña dosis de luz no filtrada sobre un patch test simple positivo puede intensificar una reacción débil y una reacción equívoca similar puede provocarse con grandes dosis de luz filtrada. Debido a ello algunos autores han llegado a dudar de que exista la fotoalergia.

Sin embargo se ha demostrado recientemente que si suministran las dosis de U.V. adecuadas para la provocación de la fotoalergia de contacto, la irradiación no tiene influencia sobre los patch test simples positivos (Mo

hajerin y Epstein 1965)(43).

g. Además de leer los resultados a las 24, 48, 72 horas y a veces al cabo de varios días más, es aconsejable irradiar una tercera zona de control en la que no se haya aplicado ninguna sustancia para así obtener un control de la respuesta a los U.V. de la piel del individuo.

h. La irradiación se efectúa con luz filtrada por cristal de ventana pero también es conveniente efectuar una irradiación con un SED o bien determinar los efectos del DED: Por ejemplo Curwen y Wilson (44) efectúan el fotopatch de la siguiente forma:

Primer día: aplicación del patch test por triplicado y determinación del MED del paciente.

Segundo día: lectura del MED. Descubrir una de las tres series y aplicar una SED. Descubrir la segunda y aplicar un MED equivalente. Una serie control.

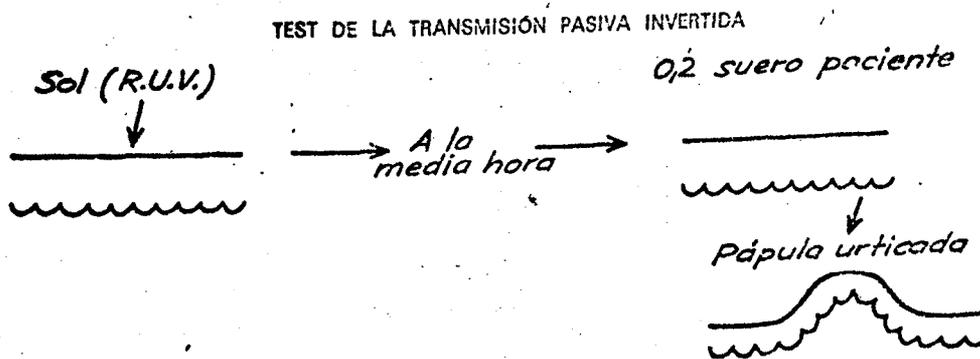
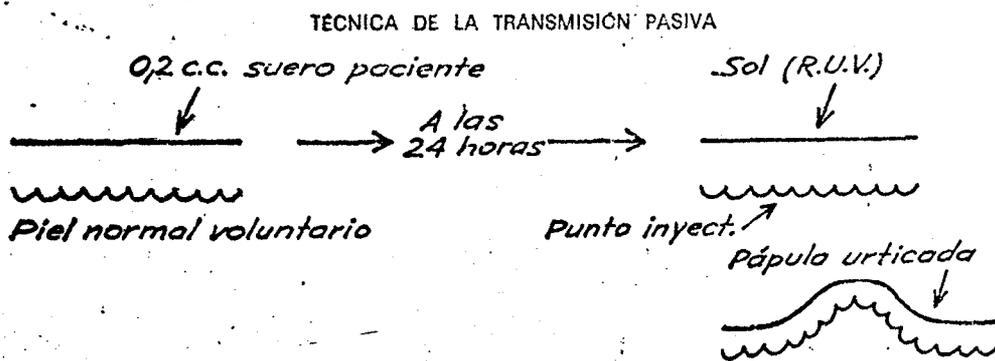
Si el posible fotosensibilizante es una sustancia no habitual debe realizarse un control con un mínimo de seis sustancias fotosensibilizantes potentes.

f) Test con luz fluorescente.- La forma más simple de practicarlo es utilizar una luz fluorescente de 6 watios que se enciende y se mantiene durante 5 minutos en íntimo contacto con la piel.

Quizá para efectuarlo de forma más correcta se puede proceder con un banco de 4 a 8 tubos que permiten irradiar al paciente a 15-30 cm. de distancia con tiempos de exposición sucesivos. Se procede como para la determinación del MED y la lectura se efectúa al cabo de 2, 4, 6, 12, 24, 48 y 72 horas.

La lámpara se calibra antes de cada test mediante termipila y galvanómetro y puede complementarse la prueba con la interposición de filtros de absorción o de interferencia.

g) Transmisión pasiva y transmisión pasiva invertida.- El test de Praun-
ntiz-Kunstner directo o indirecto puede emplearse también en fotobiología,
sobre todo en la exploración de la urticaria solar. La metodología es la
misma que en el PK normal, es decir para el test directo inyección del sue-
ro del paciente sospechoso a un individuo normal. Seguidamente se procede
a la irradiación de las pápulas intradérmicas del sujeto sustrato y a las
24 horas se observa la reacción aparecida en el mismo. Deben efectuarse
previamente test de control del sujeto utilizado como sustrato para descar-
tar que el mismo no presente ninguna alteración de la fotosensibilidad.
Por otra parte el sujeto debe tener una serología luética negativa y care-
cer de antecedentes de hepatitis. La zona irradiada debe protegerse de ul-
teriores irradiaciones.



La transmisión pasiva invertida se efectúa irradiando previamente unas áreas sobre las que a la 1/2 hora se efectuará la inyección del suero problema. La respuesta en estos casos si es positiva será inmediata.

h) Determinación de la acción espectro de una sustancia fotosensibilizante.- Para la determinación de la acción espectro, es decir de las longitudes de onda activas en una fotodermatosis no pueden emplearse fuentes de luz cualesquiera, sino que se requiere solo aquellas que emiten un espectro más o menos continuo, es decir, las de xenon o en su defecto los arcos de carbono.

Con dichas fuentes de luz se puede trabajar posteriormente con filtros o con monocromador.

El procedimiento se realiza de la siguiente forma. Se establece sucesivamente el MED del enfermo a diversas longitudes de onda, tomando por tanto como parámetro la reacción eritematosa fisiológica que pueden desencadenar las radiaciones lumínicas. Con los datos obtenidos se confecciona una gráfica de la sensibilidad eritematosa del enfermo. Para efectuar esta operación en casos de fotosensibilización a sustancias determinadas, se procede de la misma forma aunque con la diferencia de que las irradiaciones de determinación del MED se practican sobre patch test previamente aplicados, procediendo de forma similar al fotopatch test.

La acción espectro pues, se basa de hecho en el establecimiento de un estudio secuencial sobre una determinada reacción final escogida entre las diversas reacciones que la radiación lumínica produce fisiologicamente, estudiando las alteraciones de la misma que puedan aparecer. El monocromator facilita enormemente este procedimiento, pero de todas formas la determinación de las acciones espectro es lenta y muy prolongada, debiendo contar

con una amplia colaboración del enfermo. El trabajo con los filtros permite quizá una visión panorámica de la acción espectro de un determinado caso de forma más rápida conociendo la transmisión de cada uno de ellos.

Esta determinación tiene además del interés etiopatogénico evidente en cada proceso fotobiológico, un interés práctico, puesto que nos permite poder determinar el filtro de protección más adecuado en cada caso.

También podemos utilizar esta técnica de la acción espectro para el estudio "in vivo" de las sustancias fotosensibilizantes que sometidas a la acción de las diversas longitudes de onda pueden en determinadas zonas sufrir alteraciones de su coloración y espectrográficamente en alteraciones de sus bandas de absorción (espectro de absorción) que traducen cambios a nivel atómico responsables de sus acciones clínicas. Esto es lo que ocurre por ejemplo con las sulfamidas.

i) Prueba de la provocación con el papel de celo.- Eilis y Klingmann (45) asentaron las bases de dicha prueba al comprobar que el previo "strip ping" de la capa córnea antes de las exploraciones fotobiológicas permite evidenciar la fotosensibilidad más fácilmente al desaparecer una barrera importante frente a las radiaciones cual es la capa córnea. Para ello se procede a aplicar varias veces papel de celo sobre el área de piel que se vaya a emplear en la exploración arrancándola sucesivas veces hasta que se comprueba que ya no se adhieren a él más células de la capa córnea.

PARTE V - FOTOBIOLOGIA CELULAR Y MOLECULAR

FOTOBIOLOGIA A NIVEL CELULAR Y MOLECULAR

Tal como hemos indicado la exploración fotobiológica puede realizarse como investigación clínica sobre el enfermo o también sobre otros organismos. Además de los animales de experimentación también se han utilizado elementos unicelulares (levaduras, bacterias, huevos, espermatozoides de animales, protozoos, células de cultivo, células nerviosas, hematíes, etc.). Sin embargo en estos últimos tiempos la investigación fotobiológica ha ido más allá de las células y en la actualidad se están estudiando los efectos de la luz sobre sustancias químicas orgánicas procedentes de las mismas células: proteínas, hidratos de carbono, aminoácidos y sobre todo se investiga ampliamente la acción de la luz sobre los ácidos nucleicos DNA y RNA. Por lo que respecta al DNA no solo se han estudiado con detalle las alteraciones producidas por la luz sino también los mecanismos de reparación de las mismas.

La acción de la luz sobre estas últimas sustancias es objeto en estos momentos de investigaciones muy complejas y es poco aún lo que sabemos. Los ácidos nucleicos, son sustancias que absorben la luz en mucha mayor cantidad que las proteínas, como se sabe los componentes de los ácidos nucleicos son fundamentalmente las purinas, pirimidinas y glicofosfatos. Muchas de las lesiones y reacciones de la piel bajo la acción de la luz pueden explicarse sobre la base de los trastornos ocasionados por este agente en los ácidos nucleicos especialmente sobre el DNA.

De los dos componentes primordiales del ácido desoxirribonucleico, las purinas (adenina y guanina) son diez veces menos sensibles que las pirimidinas (citosina y timina). La luz a dosis habituales no provoca graves alteraciones sobre las primeras y acaso tenga más importancia la transferencia de energía realizada por las purinas a otros sistemas celulares o moleculares, pero hasta este momento poco se conoce al respecto.

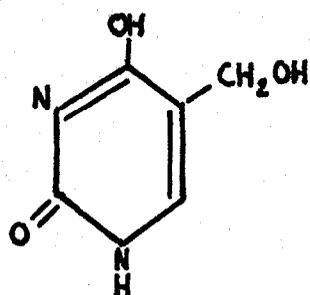
Las radiaciones activas frente al DNA son las comprendidas entre los 240 y 260 nm. Las situadas entre 285 y 300 nm. probablemente también actúan. Estas radiaciones son las activas sobre las bases pirimidínicas del DNA.

La mayoría de los efectos letales y mutagénicos de las radiaciones U.V. sobre las células vivas son atribuidas a las alteraciones fotoquímicas de las bases pirimidínicas. Las alteraciones más importantes causadas por la luz son las siguientes: 1) Hidratación de pirimidinas, 2) Formación de dímeros de ciclobutano y 3) Formación de "adducts" de pirimidina.

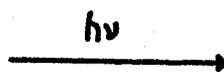
1) Hidratación de pirimidinas: Por una parte la acción de la luz sobre las pirimidinas del DNA produce hidratación. Por adición de una molécula de agua sobre el doble enlace 5-6 de las mismas, se forman hidratos de pirimidina. Esta hidratación es importante para la formación de DNA de hileras únicas y puede condicionar por ello una alteración en la replicación o transcripción de este ácido nucleico (provocación de una mutación). La hidratación es reversible por el calor y la acción de un ácido. Un método general de reparación de hidratos consiste en la irradiación de los nucleótidos o nucleósidos con longitudes de onda entre 240-290 nm.

Se ha comprobado que la formación de hidratos de citosina se produce por vía fotoquímica, pero en cambio no hay pruebas de esta formación a partir de la timina. El uracilo forma hidratos bastante estables y la mayoría de datos que disponemos sobre la hidratación de pirimidinas se refieren a estas sustancias. La irradiación del uracilo en soluciones congeladas produce no solo la formación de hidratos, sino también dímeros tipo ciclobutano. Su separación se obtiene por cromatografía en capa fina. El mecanismo de esta fotohidratoacción comprende con toda probabilidad, la formación de un "singlet excitado" en algunos casos, pero más frecuentemente otras formas energéticas distintas del estado de "singlet excitado" (Burk y col. 1972).

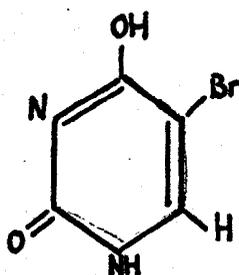
HIDRATAACION DE PIRIMIDINAS



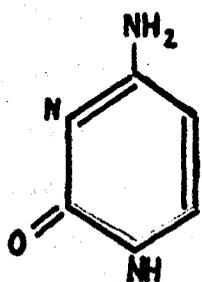
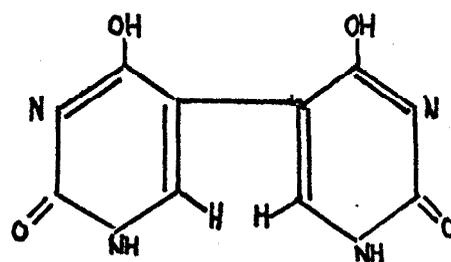
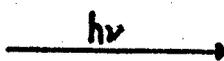
5-HIDROXIMETILURACILO



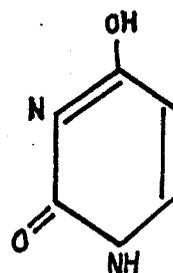
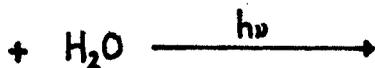
DIMERIZACION (REVERSIBLE)



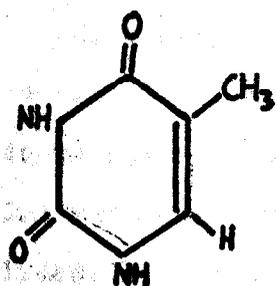
5-BROMOURACILO



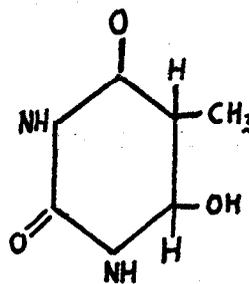
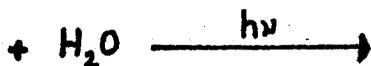
CITOSINA



URACILO



TIMINA

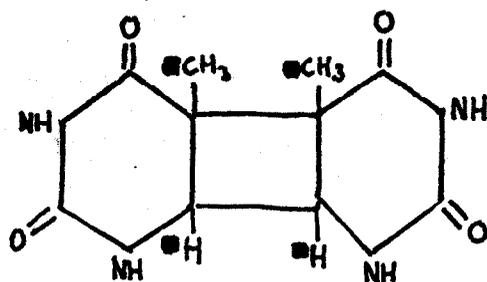


2) Formación de dímeros de ciclobutano (Fig. 9): Por otra parte las radiaciones de 260-280 nm. y probablemente las radiaciones entre 220-300 nm. incidiendo sobre algunas pirimidinas (como p. ej. la timina) y sus derivados, a pesar de no absorber estas radiaciones, pueden producir dímeros por uniones entre los átomos de carbón 5-6: dímeros de timina (TT), uracilo-timina, citosina-timina, y uracilo-citosina, así como otros productos aún no muy bien conocidos. A diferencia de la hidratación la formación de dímeros regresa al estado monomérico por la acción de longitudes de onda más cortas (240-254 nm.).

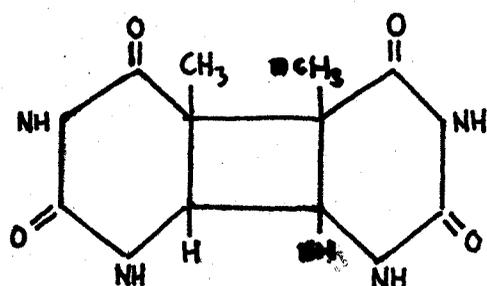
Los dímeros tipo ciclobutano pueden existir en cuatro formas isoméricas (I-IV): cis-sin, cis-anti, trans-sin, trans-anti. El punto final de absorción de estos compuestos se sitúa en la región de los 260 nm. Estos dímeros se convierten en monómeros, recuperando su capacidad de absorción de la radiación de 260 nm. por la acción de longitudes de onda de 254 nm. o más cortas cuando están en solución acuosa. La irradiación con ondas de más de 300 nm. no monomeriza los dímeros aunque la monomerización de las formas cis - sin y trans-sin de los dímeros de timina y timina-uracilo por acción de estas longitudes de onda ha sido observada en presencia de antraquinona y derivados (Ben-Hur y Rosenthal, 1970)(46). Asimismo la excitación de triptofano y 5-hidroxitriptofano por longitudes de onda superiores a 290 y 310 nm. respectivamente en presencia de dímeros de timina tiene como consecuencia la monomerización de estos últimos por sensibilización (Helene y Charlier, 1971)(47).

Los mecanismos de formación de los dímeros de tipo ciclobutano incluyen la ciclo-adición de dos bases pirimidínicas contiguas por establecimiento de un enlace anormal resultante del desdoblamiento del doble enlace entre los carbonos 5 y 6. El dímero de timina es el que se forma con mayor facilidad. Por esta razón la radiación ultravioleta es mucho más activa, por lo que respecta a la formación de estos dímeros, sobre aquellas moléculas o células ricas en timidina. La formación de los dímeros se produce posiblemente por reacción de una molécula en estado básico, aunque este hecho no ha sido todavía confirmado.

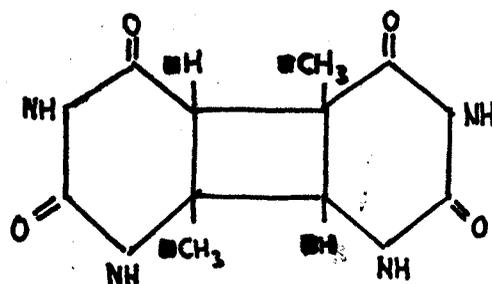
DIMEROS TIPO CICLOBUTANO



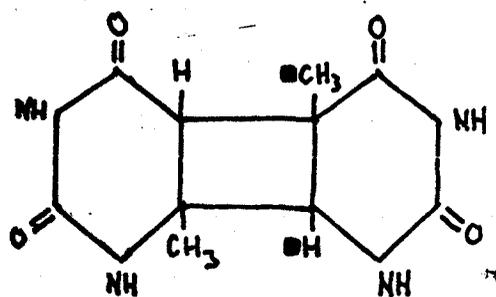
CIS - SIN



TRANS - SIN



CIS - ANTI



TRANS - ANTI

FIG. 9

La formación de dímeros de timina ha sido demostrada en bacterias y en cultivos de células, y recientemente Pathak y col (1970)(48) han publicado la formación de dímeros de timina (TT) en la piel de cobayas. Mediante irradiación con la banda eritrogénica (290-310 nm.) fué posible demostrar la formación de dímeros de timina que constitúan el 1'7 - 2'6% del total de timidina tritiada incorporada al DNA. La irradiación con longitudes de onda entre 250-260 nm. también produjo la formación de dímeros (TT) pero en menor cantidad (0'46-1'2%). La irradiación con longitudes de onda de 320-340 nm. no dió lugar a la formación de estos dímeros. El comportamiento del DNA aislado de la piel del cobaya fué similar al DNA de origen bacteriano. Su Rf en cromatografía de intercambio de iones fué de 0'64 en butanol + H₂O. Debemos recordar que la radiación de 250-260 nm. es la emitida por las lámparas germicidas (254 nm.). Estas radiaciones causan la destrucción de los gérmenes al ser absorbidas por los ácidos nucleicos.

3) Formación de "adducts": Los derivados pirimidínicos pueden producir un segundo tipo de adición bimolecular que recibe la denominación de "adducts" de pirimidina. Estos productos se forman a partir de bases idénticas o no, y su característica es la propiedad de absorber longitudes de onda por encima de los 300 nm.

No ha sido publicada la formación de dímeros de timina (TT) con adducts en otras condiciones aparte del estado congelado para su irradiación. En la actualidad se estudia la posibilidad de la formación de adducts con uracilo y citosina. Asimismo no se conocen aún perfectamente los heteroadducts (con dos bases distintas).

Los supuestos mecanismos para la formación de adducts son muy variados. Los fotoadducts no tienen mayor importancia biológica pero pueden tener interés en determinados procesos de fotosensibilización (fotosensibilización al psoralén, etc.).

Sistemas de anti-radiación

Frente a las alteraciones causadas por la luz en el DNA, la célula como unidad biológica, posee los tres siguientes principales sistemas o mecanismos anti-radiación determinados genéticamente que actúan para reparar los genes alterados: a) Fotoreactivación ("light repair"), b) "dark repair" (o reparación en la oscuridad) y c) recombinación (reparación postreplicativa). Algunas células poseen solamente uno de estos mecanismos y otras pueden emplear cualquiera de los tres.

a) Fotoreactivación (Mecanismo de recuperación por reactivación catalizada por enzimas: Constituye un mecanismo de recuperación de la lesión por irradiación lumínica del que disponen las células para contrarrestar la acción de la radiación ultravioleta corta (250-280 nm.) sobre su DNA. Es el mejor estudiado y comprende la recuperación de la porción de molécula de DNA lesionada "in situ". Para su funcionamiento se requiere la presencia de: 1) radiación lumínica adecuada (luz visible u otra longitud de onda) situada entre 300 y 500 nm. y 2) un enzima fotoreactivador (PR-enzyme) que ha sido aislado y que muestra una acción específica de reparación de los dímeros de tipo coclobutano.

Este mecanismo fué descrito por Kellner (1948)(49) en los cultivos de actinomicetos en los que se observó que los organismos que sobrevivían a una radiación intensa de U.V. proliferaban considerablemente después de una nueva exposición a los rayos de luz visible. Se produce una verdadera "resurrección por la luz visible".

El "enzima reactivador" transforma los dímeros en monómeros con los que el DNA celular recupera su estado inicial (Stlow y Stlow, 1966)(50). Este enzima se une selectivamente al DNA que ha sido irradiado con luz U.V. cor

ta y tomando la energía de la reirradiación con luz visible o U.V. largos (que actúan únicamente como fuente de energía) desdobra los dímeros formados. El curso de esta reacción enzimática ha sido establecido sin ninguna duda y se sabe que el sustrato de su acción son los dímeros tipo cis-sin. Los dímeros tipo ciclobutano de citosina y uracilo pueden también constituir el sustrato aunque en menor cuantía.

FOTOREACTIVACION

DNA DOBLE HILERA

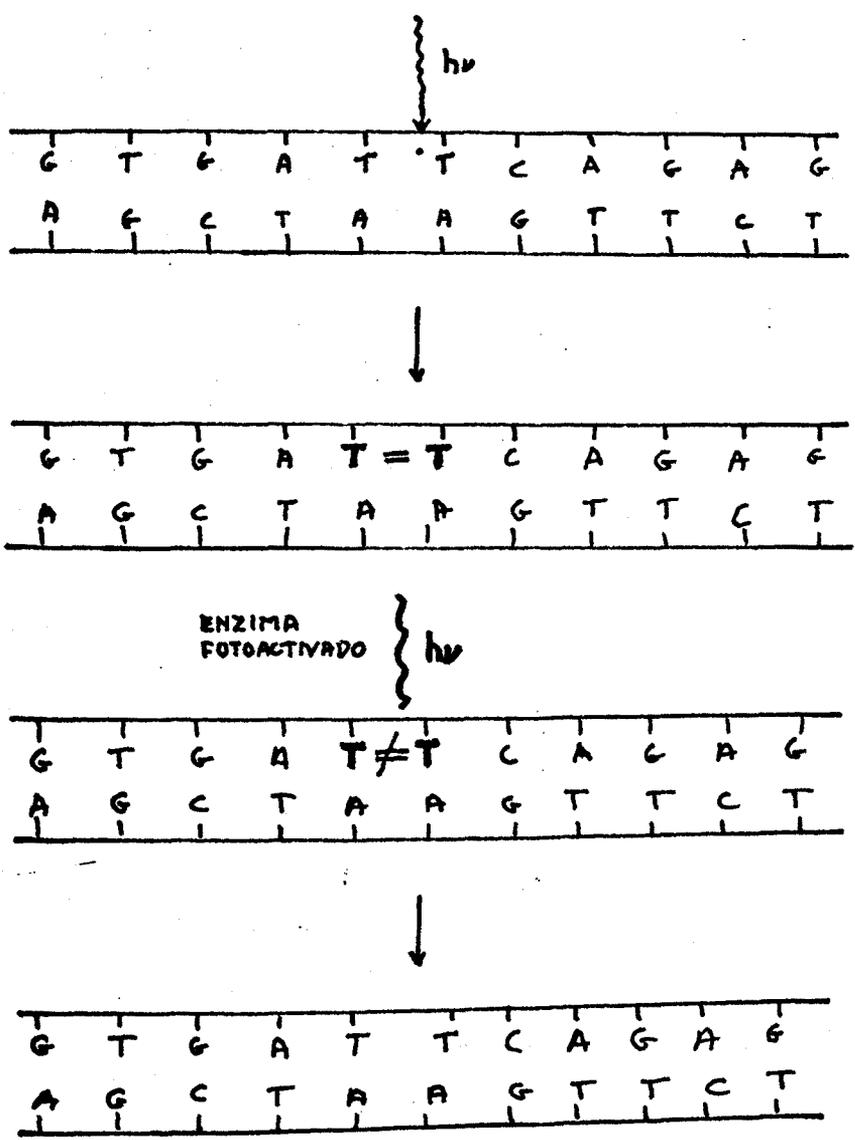


FIG. 10

Aparentemente este mecanismo actúa solo en organismos primitivos (marsupiales) pero puede existir en roedores y también en el hombre (Van de Leunen y Stoop, 1969, (51), Freeman y col. 1968 (52), Brown y col. 1971 (53)). En plantas y bacterias existen otros tipos de fotoreactivación sin participación enzimática (direct photochemical repair-Indirect photoreactivation).

En algunos casos el daño producido por la radiación ultravioleta puede ser mucho mayor desbordando la acción de los mecanismos de reparación. Por ejemplo se sabe que la irradiación a 365 nm. da lugar a adducts de psoralen-timina. La reirradiación a 254 nm. restaura el compuesto inicial. Sin embargo en los ensayos de reirradiación de células dañadas por longitudes de onda de 365 nm. en presencia de psoralén o angelicin empleando longitudes de onda más cortas no se obtienen "reactivaciones". El desprendimiento de los radicales furocumarínicos del DNA solo se produce en una mínima cantidad y solo con aquella radiación es capaz de producir directamente la formación de dímeros de pirimidina (experiencias de Dall'Acqua y col. 1969 (54)). Chandra y col. (1971)(55) en experiencias parecidas tampoco obtuvieron la reactivación de células de E. coli B parcialmente inactivadas por irradiación a 365 nm. en presencia de psoralén mediante reirradiación con luz visible. La ineficacia de los enzimas bacterianos de fotoreactivación fué atribuida a la presencia de "cross links" (enlaces cruzados) producidas por el psoralén en las cadenas del DNA que impedían la separación de las mismas. Análogos resultados fueron obtenidos por Rodighiero y col. (1971)(56) empleando angelicin.

b) "Dark repair" (reparación en la oscuridad)(Sistema de reparación por excisión y resíntesis): Este es el segundo sistema de reparación en el que aunque el resultado final es el mismo, sin embargo es completamente distinto de la fotoreactivación o de la recombinación.

En este sistema los dímeros del DNA no vuelven a su estado original sino que las lesiones que se limitan a pequeñas áreas de la cadena de DNA

son escindidas dejando un número variable de bases inalteradas al lado de la lesión. La lesión provocada por la radiación ultravioleta es eliminada del DNA junto con parte de oligonucleótido reemplazando aquellas que habían quedado alteradas. Este mecanismo se denomina de "reparación por escisión". Por ello la eliminación de las lesiones causadas por el U.V. comprende por una parte una fase de incisión, y escisión y la resíntesis incluye repolimerización de los fragmentos perdidos.

Según Setlow (1966)(57) en este mecanismo hemos de contar con la acción por una parte de un "enzima de escisión", que corta la porción de polinucleótido conteniendo los dímeros de timina, y por otra parte un "enzima reparador", posiblemente la polimerasa de Kronberg que sería el responsable de la repolimerización y reincorporación de los fragmentos que faltan. Una tercera enzima, la ligasa, soldaría la rotura de la hilera única rota.

Kaplan y col. (1971)(57) consiguieron la purificación y estudiaron las propiedades de dos enzimas de *Micrococcus luteus*. El primero, la U.V. "endonucleasa" que cataliza las incisiones en la cadena de DNA en las proximidades de las lesiones producidas por la radiación U.V. El segundo la U.V. "exonucleasa" que libera las áreas lesionadas de una de las cadenas del DNA delimitadas por la incisión.

Métodos para detectar la reparación en la oscuridad : Por lo que se refiere a la fotobiología dermatológica, el hecho más importante lo constituye el que Cleaver (1968)(1) logró demostrar que en el xeroderma pigmentosum el mecanismo de reparación en la oscuridad está alterado (reducido o totalmente ausente). Esta alteración sería la causa de la hipersensibilidad a la luz y la carcinogénesis acelerada que existe en esta enfermedad. La demostración de la misma puede hacerse con los siguientes métodos:

"DARK REPAIR"

DNA
DOBLE HILERA

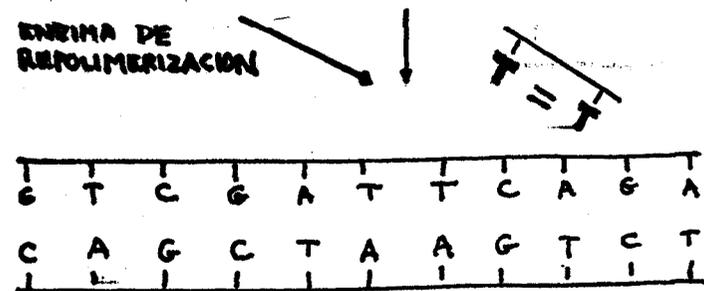
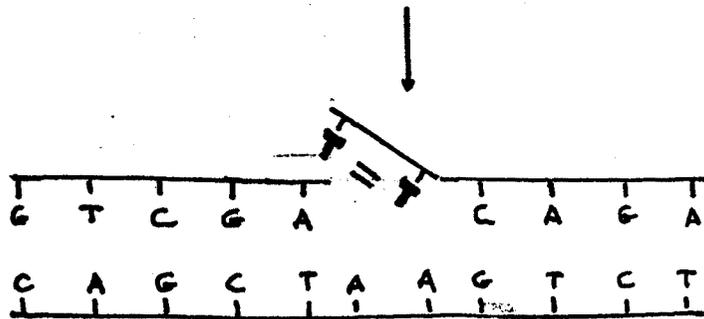
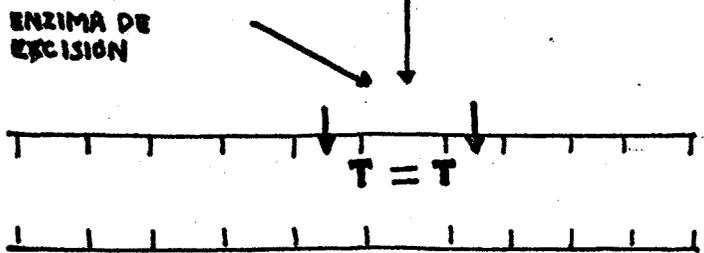
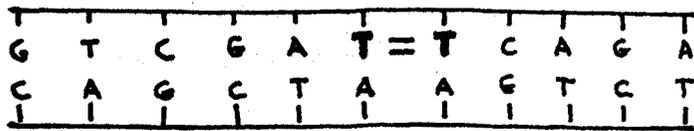
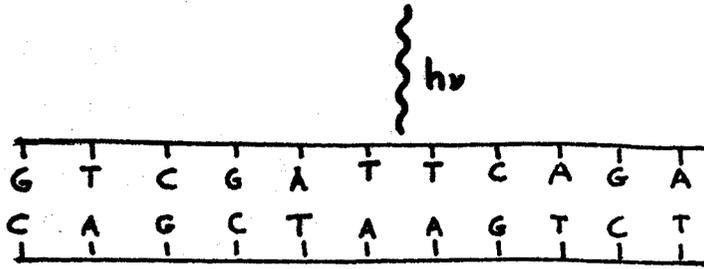


FIG 11

a) Autorradiografía de fibroblastos. Para la demostración Cleaver (1963) (1) utilizó los cultivos de fibroblastos en monocapa preparados a partir de biopsias de piel. Estas células fueron sometidas a estímulos moderados con radiación U.V. ya que la hipersensibilidad lumínica del xeroderma pigmentosum es evidente "in vivo", y la irradiación se practicó a temperatura ambiente.

Los fibroblastos normales poseen este mecanismo de reparación consistente en la inserción de nuevas bases en puntos del DNA en la oscuridad. Un método para evidenciar este mecanismo de reparación por escisión es el marcado de las células mediante timidina tritiada (H^3 TdR) y autorradiografía ("unscheduled synthesis"), al que nos referiremos más adelante con detalle al hablar de métodos utilizados en esta tesis.

b) Gradiente de densidad. Para hacer posible la distinción entre la replicación semiconservadora normal y el mecanismo de reparación por escisión se emplearon también técnicas de gradiente de densidad y marcado con BudRH3 (bromodeoxiuridina tritiada).

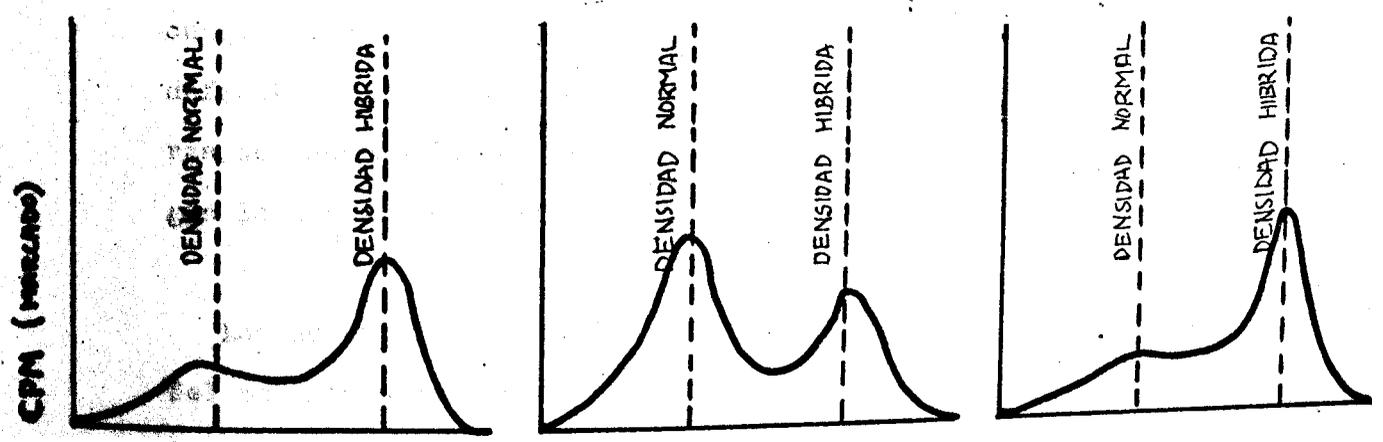
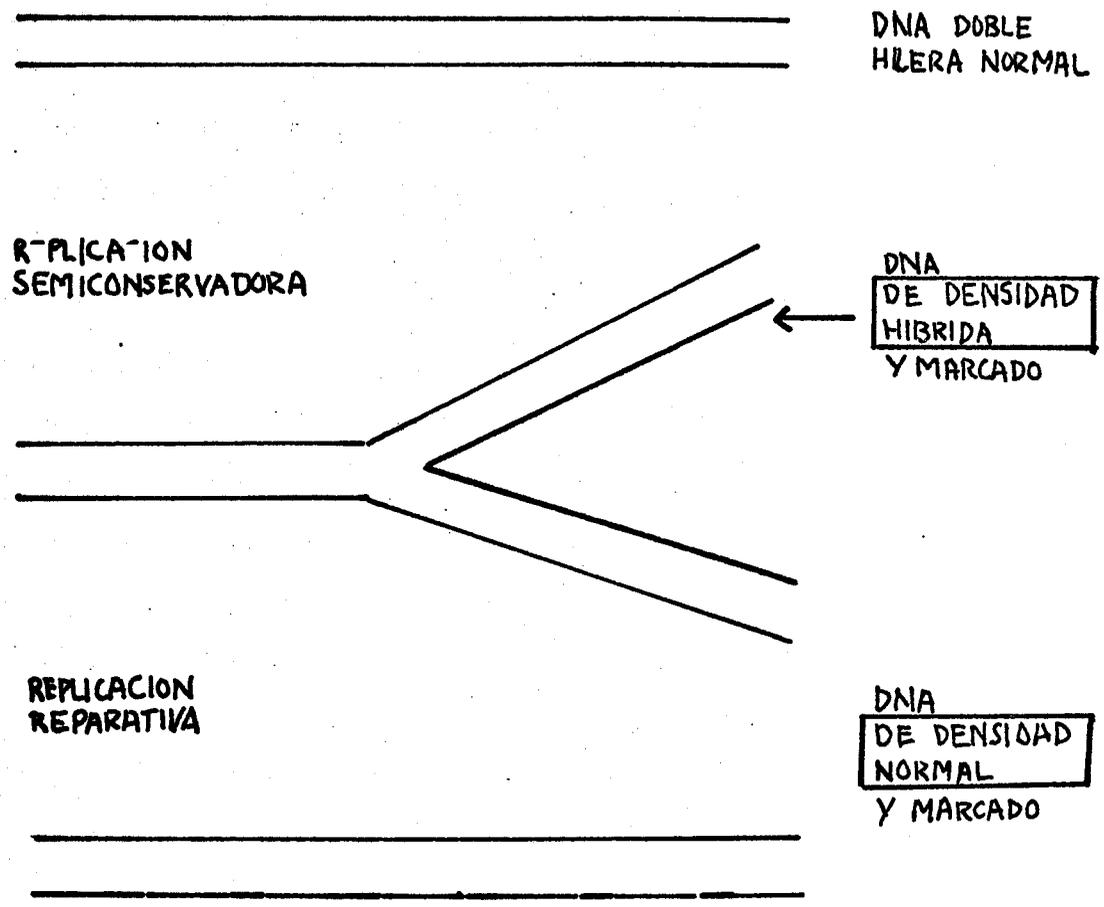
El método utilizado por Cleaver se basa en el hecho de que la BudRH3 reemplaza a la timidina durante la replicación semiconservadora normal de una cadena de DNA, de forma que la reduplicación normal semiconservadora produce un híbrido de DNA-BudRH3 en la cadena sintetizada de nuevo. Si la reparación replicadora se produce por medio de la escisión y adición de pequeños parches distribuidos en secuencia infrecuente de BudRH3 (bromuracilodesoxirribosa) el DNA quedará marcado por el tritio pero conservará la densidad normal, ya que el BudRH3 solo quedará incorporado en los puntos de reparación.

c) Centrifugación del DNA. Una tercera técnica para el estudio de la reparación reparadora ha sido introducida recientemente y está basada en la centrifugación del DNA celular en sucrosa alcalina. Las zonas reparadas conteniendo BudRH son escindidas selectivamente mediante Bromouracilofotoautólisis (Regan y col., 1971)(59). Las regiones escindidas marcadas por BrUdR incorporado, en el momento en que la reparación queda completada, son reescindidas simultáneamente por fotoautólisis del nucleósido. Se trabaja con la radiación de 313 nm. para evitar o minimizar la rotura de DNA no sustituido. El DNA celular se marca con timidina tritiada. Este método es fácil, rápido y extremadamente sensible.

Dark repair en el xeroderma pigmentosum.- En el xeroderma pigmentosum el mecanismo de reduplicación del DNA está ausente o al menos solo actúa de forma mínima, a un nivel mucho menor que en los fibroblastos normales. Por el contrario este mecanismo actúa normalmente en los enfermos con otros síndromes relacionados, tales como el síndrome de Rothmund Thompson, la progeria, síndrome del nevus basocelular y la degeneración actínica de la piel.

Bootsma (1970)(60) creyó que existía una relación inversamente proporcional entre la capacidad de reparación en la oscuridad de los fibroblastos y la gravedad de la sintomatología clínica del xeroderma pigmentosum: es decir que por ejemplo en el síndrome de De Sanctis-Cacchione la incapacidad era total mientras que solo alcanzaba un 20-25% de las células en el xeroderma pigmentosum clásico. Este hecho no ha sido confirmado y el grado de capacidad reparadora no corresponde a la gravedad del cuadro clínico (Gleaver 1972)(61).

ESQUEMA DE LA VALORACION POR GRADIENTE DE DENSIDAD DE LA REPLICACION SEMICONSERVADORA Y DE LA REPLICACION REPARATIVA.



CONTROL SIN IRRADIAR

CONTROL IRRADIADO

X.P. IRRADIADO

Burcks y col. efectuaron también el descubrimiento interesante (1969, 1970, 1971)(62) de que en el xeroderma pigmentosum los linfocitos presenta ban una tasa de incorporación de timidina disminuida o nula, si bien en el primer caso la incorporación se prolonga durante más tiempo que en los lin focitos de individuos normales.

Cleaver (1969)(64) creía que el defecto residía en la primera fase de la reparación por escisión, Setlow y col. (1969)(65) empleando una técnica ligeramente diferente de la de Cleaver, hallaron que el defecto se sitúa a nivel de la endonucleasa en la fase inicial del proceso reparador. Las células del X.P. carecen de una endonucleasa específica para esta función.

Jung y col. (1970)(66) confirmaron los hallazgos de Cleaver no solo en los cultivos de fibroblastos sino también en los linfocitos y las células epidérmicas de tres casos de xeroderma pigmentosum y otros autores han con firmado igualmente estos primeros hallazgos (Cleaver, 1970 (67), 1971 (68), 1972 (61), Reed y col. 1969 (2), Cleaver y Trosko 1970 (69), Epstein y col. 1970 (70), Goldstein 1971 (71), Setlow y col. 1969 (65)).

Es posible que el defecto bioquímico esté presente en todas las células del organismo del enfermo de xeroderma pigmentosum.

La mayoría de casos de xeroderma estudiados presentaban una reducción cuantitativa del mecanismo de reparación por escisión, siendo el grado de déficit muy variable. La incorporación de timidina tritiada a las tres horas de incubación después de la irradiación de los fibroblastos oscila se gún los pacientes entre el 10 al 70 % de las células normales.

Los heterocigotos pueden mostrar también una reducción en la actividad del mecanismo de reparación.

Solo en un pequeño número de casos el déficit de la reparación es totalmente indetectable (Cleaver 1968 (1), 1969 (64), 1970 (67), 1971 (68), Bootsma y col. 1970 (60), Parrington y col. 1971 (72)).

Mutantes del xeroderma: En los enfermos de xeroderma pigmentosum se han identificado diferentes mutaciones del sistema de reparación por escisión. Según Cleaver corresponden a mutantes diferentes. Uno de ellos lo constituye el síndrome de De Sanctis Cacchione en el que se presenta una grave alteración del sistema nervioso, enanismo, microcefalia, retraso mental, depósitos masivos de glicógeno en los músculos e hipogonadismo. Algunos de estos pacientes no poseen ningún mecanismo de reparación replicadora, constituyendo una grave delección en el gen afectado. Otros muestran una capacidad de reparación parcial representando alteraciones por mutación.

Otra variedad parece no presentar ningún defecto en los mecanismos de reparación (Burks y col. 1971 (62), Cleaver (61)) y los fibroblastos de tres casos estudiados presentaban una sensibilidad normal a la radiación U.V. a pesar de su cuadro clínico. En el caso de Burks esta sensibilidad normal también se comprobó en las células epidérmicas. Puede tratarse de mutaciones en fases más avanzadas de la reparación replicativa u otro sistema de reparación o bien un mosaicismo (pero en el caso de Burks y col. no se demostró la presencia de dos clases de células, unas con reparación replicativa y otras sin, lo que hace difícilmente aceptable el mosaicismo). El defecto bioquímico en estos casos es todavía desconocido.

La tercera variante fué descrita por Jung en 1971 (73) con la denominación de xerodermoide pigmentado correspondiente a la antigua denominación de xeroderma pigmentosum tardivum. Estos pacientes presentan alteraciones cutáneas comparables a las del xeroderma pigmentosum, iniciándose sin embargo después de los 30 años de edad y evolucionando de forma menos grave

compatible con la duración vital normal. En estos casos los linfocitos mostraron una tasa de supervivencia disminuida después de irradiación con U.V. como en el X.P. clásico, pero la reparación replicativa de las células epidermicas era normal con solo una intensa o total depresión de la síntesis de DNA después de la aplicación de una dosis relativamente pequeña de radiación U.V., mientras que en la piel normal la síntesis premitótica de DNA solo se ve reducida en relación a la energía de la radiación.

Jung llega a la conclusión de que en estos casos la primera fase del proceso replicativo comprendiendo la acción de los enzimas que reaccionan específicamente, es decir la DNA endonucleasa, exonucleasa y polimerasa, es normal desde el punto de vista funcional. Sin embargo podría haber un posible defecto en la fase de recuperación durante la recombinación, lo que condiciona un aumento de la sensibilidad a la luz y afecta a la replicación semiconservadora de las células de la capa basal, que condicionarían las alteraciones tan importantes en las áreas cutáneas expuestas a la radiación.

Las alteraciones específicas en estos casos podrían situarse en las fases finales del mecanismo de reparación a nivel del enzima que lleva a cabo la unión o bien puede afectar la replicación semiconservativa del sistema polimerasa que es innecesario para el sistema de reparación. Otro proceso distinto puede estar presente para la concrección de las alteraciones producidas por los U.V. en el DNA, quizá un sistema de reparación por recombinación que puede interferirse con la replicación semiconservadora más que con la reparación por escisión y que puede ser deprimido por la acción de la cafeína (Setlow y col. 1969)(65).

Sin embargo según Cleaver (1973)(74), Jung no ha demostrado que las células de los enfermos con xerodermoide muestren sensibilidad anormal a los U.V. o características bioquímicas que puedan corresponder a una mutación recombinacional. Los hallazgos de Robbins y col. (1972)(75) apuntan justamente en esta dirección.

La mayoría de heterocigotos de xeroderma pigmentosum estudiados han mostrado una reparación replicativa normal, pero Cleaver (1973)(74) ha descrito una segunda variante en dos casos en los que la tasa de reparación replicativa alcanzaba su saturación a un nivel más bajo que en las células normales empleando dosis más elevadas, lo que hace suponer que el déficit enzimático es parcial y solo de carácter limitativo de la tasa de reparación.

Los estudios en la herencia del xeroderma pigmentosum han demostrado también un evidente heterogeneidad a nivel molecular. Esta heterogeneidad ha determinado que en unos casos se afecte solamente la piel (xeroderma pigmentosum clásico) mientras que en otros (síndrome de De Sanctis Cacchione) se afecte la totalidad del organismo, dando lugar a alteraciones mentales, neurológicas y genitales características de este síndrome. La heterogeneidad puede ser demostrada incluso en el xeroderma pigmentosum clásico en donde la reparación replicativa del DNA después de irradiación con U.V. de los cultivos de fibroblastos mediante timidina marcada y autorradiografía, muestra una reparación deficiente en las fases de síntesis de DNA, G1 y G2 siendo el defecto mucho más acentuado en los casos graves que en los leves. Estos hechos sugieren una constante reducción de los niveles de actividad reparadora genéticamente determinada.

El defecto enzimático del X. P. puede ser corregido mediante técnicas de complementación de los cultivos celulares. Los fibroblastos normales segregan una sustancia fácilmente difusible que producen una reparación normal en los fibroblastos enfermos con xeroderma pigmentosum.

Por otra parte mediante estas técnicas de fusión celular y complementación intergénica se ha demostrado que las células binucleadas formadas por la unión de fibroblastos de enfermos con xeroderma pigmentosum clásico y de síndrome de De Sanctis Cacchione daban lugar a un patrón de marcado idéntico del de los fibroblastos normales después de la irradiación con U.V.

La deducción lógica de este hecho es que el defecto básico en el xeroderma pigmentosum y en el síndrome de De Sanctis Cacchione se sitúa en genes distintos cuya complementación intergénica da lugar a unas células híbridas normales.

Ultimamente se ha centrado el problema en el estudio del papel específico de los enzimas que intervienen en el "dark-repair" (endo y exonucleasa) en el xeroderma pigmentosum. Beck y col. (1972)(76) aislaron desoxirribonucleasas de la piel de enfermos afectados de xeroderma pigmentosum y de controles normales, evaluando su actividad mediante DNA de Escherichia Coli marcado. El resultado obtenido demostró que la actividad era igual tanto en la DNA desoxirribonucleasa de X.P. como de piel normal a pH 7 pero esta actividad era marcadamente inferior a pH ácido de 5.3. La investigación electroforética mostraba en la actividad de la DNasa ácida solo dos o tres bandas cuando en los extractos de piel normal eran cuatro. La ausencia en los autorgramas de las bandas de acción rápida a pH 5 en los enfermos se ha atribuido a un déficit o ausencia de actividad enzimática o aumento de los inhibidores como se ha descrito respecto a la DNasa de los leucocitos. Estos autores creen que serían ciertas las hipótesis que suponen que en el X.P. están afectadas las fases iniciales de la síntesis reparadora del DNA controladas por las DNAsas, que se desarrollan de forma incompleta en caso de que se incien, correspondiendo el papel más importante a la DNasa II. Sin embargo Slor y Lev (1973)(77) hallaron una DNasa específica para DNA irradiado en extractos en crudo de células HeLa. En individuos normales y afectados de X.P. se puede hallar la misma DNasa, lo que indica que su actividad no está correlacionada con las anomalías en la reparación por escisión. Por ello debemos suponer que la actividad de DNasa no sea realmente específica para el DNA irradiado con U.V. La irradiación con grandes dosis de U.V. produce extensas roturas y desnaturalización parcial del DNA. Empleando este sustrato de DNA irradiado para determinar la actividad de la DNasa se halló otro enzima que degradaba zonas de una cadena del DNA más que los puntos de formación de fotoproductos. Este enzima sería una exonucleasa específica para DNA de cadena única.

El descubrimiento de Cleaver es importante no solo desde el punto de vista pronóstico y diagnóstico, pero también desde el ángulo del diagnóstico prenatal. La amniocentesis es una técnica que se emplea actualmente de forma habitual para la predicción de alteraciones enzimáticas congénitas así como alteraciones cromosómicas, aunque no carezca de riesgo y debe ser practicada por personal experimentado. En dermatología ha sido utilizado para el diagnóstico prenatal de algunas enfermedades (angioqueratoma de Fabry, síndrome de Chediak-Higashi, síndrome de Lesch-Nyhan, síndrome de Refsum). La amniocentesis abdominal en el seroderma pigmentoso solo tiene valor si ya ha habido algún niño diagnosticado en la familia. Cualquiera de los métodos descritos pueden emplearse para el estudio del mecanismo de reparación por escisión en las células amnióticas, una vez han sido cultivadas. El método más sensible, fácil y preciso según Cleaver (1973)(74) sería la técnica de autorradiografía para la síntesis "unscheduled" que requiere solamente unas pocas docenas de células para autorradiografía con una exposición de dos o tres días (con actividad específica de TdRH3 por encima de los 15 Ci/mmols.). Con gradientes isopícnicos se requieren 10^6 de células y con el método de Reagan de la fotólisis de BrdU entre 10^3 y 10^4 . Las técnicas de "unscheduled synthesis" y de gradientes de densidad pueden ser utilizadas directamente sobre las células obtenidas por amniocentesis evitando así el cultivo y sus dificultades. No existe posibilidad de confusión de homo y heterocigotos.

Como resumen diremos que en el X.P. debería existir una especial susceptibilidad de las células frente a las radiaciones U.V. debida bien a un déficit de endonucleasa o bien a un déficit en la capacidad de cerrar las incisiones producidas por la misma antes de producirse la síntesis y la escisión de los dímeros. Si estas primeras fases del mecanismo de reparación dependientes de enzimas específicos (endonucleasa, exonucleasa, polimerasa del DNA) son normales, el déficit puede residir en una fase posterior o bien afectar al sistema de la DNA-polimerasa de replicación semiconservada.

Robbins y col. (1972)(75) siguen pensando que el defecto básico en el X.P. no se ha detectado aún y que la reducción reparativa después de la irradiación con U.V. de las lesiones sobre el DNA no constituiría realmente su etiología.

De todas formas los hallazgos en el X.P. constituyen un paso importante para la comprensión de los cánceres más frecuentes de la piel. Los déficits en los sistemas de reparación podrían influir sobre las mutaciones celulares somáticas, en la frecuencia de las aberraciones cromosómicas y las anomalías diferenciativas. Las alteraciones pueden determinar la transformación de células normales en células neoplásicas por acción sobre algunos virus carcinogénicos latentes.

En cuanto a las posibilidades de un tratamiento etiológico en el xeroderma pigmentum, todos los intentos realizados hasta ahora por Bootsma y col. (1970)(60), Cleaver (1970 (69), 1973 (74)) y Parrington y col. (1971) (72) no han permitido obtener ningún resultado positivo.

Por otra parte otros autores han publicado estas técnicas sobre otras enfermedades lumínicas como Horkay y Meszaros (1971)(78) en la dermatitis polimorfa lumínica con resultados interesantes. Irradiando cultivos de linfocitos de 13 pacientes afectados de este proceso a 30 cm. de distancia con longitudes de onda de 320 nm. se observó un mayor porcentaje de transformación linfoblástica que en los cultivos de individuos normales, y de afectados con porfiria cutánea tarda. Se observó mediante la incorporación de TdRH3 y BrdUH3 una mayor síntesis de DNA y RNA. Estos resultados sugieren un mecanismo de reacción distinto del de reparación determinado hasta ahora que no ha sido confirmado por Raffle y col. (1973)(79).

Bootsma y Humphrey (1968)(80) trabajando con células de Hamster chino y células humanas T, indicaban que 100 ergs/mm² de radiación de 254 nm. afec

taban fundamentalmente a las células en fase G2 inicial y mayormente a las células en fase G2 tardía, con el correspondiente alargamiento de la fase S e inhibición de la síntesis del DNA y retraso de la división celular.

Estos trabajos han aumentado por tanto las posibilidades de estudio de la carcinogénesis en relación con un posible defecto de reparación por replicación, si partimos de la base de que las alteraciones del DNA causadas por la luz pueden quedar sin reparación y que el organismo puede establecer un mecanismo de compensación produciendo células tumorales para reemplazar las muertas por la acción del U.V. Por otra parte también aumentan las posibilidades de estudio de otros procesos causados por la luz.

La ausencia de reparación del DNA es una posible causa del crecimiento deficiente de los cultivos de fibroblastos por senescencia precoz demostrada por Goldstein (1971)(3).

El sistema de recombinación (Sistema postreplicativo de Smith. 1971)
(82): Este mecanismo está presente en todas las células, inclusive las células humanas, pero no ha sido estudiado completamente porque no disponemos de mutantes humanos de este sistema, que no actúa sobre los fotoproductos primarios, sino solo sobre defectos en una de las cadenas del DNA determinados por la formación de dímeros de pirimidina. El defecto no se repara directamente y queda ignorado o se pasa por alto y el defecto de información genética se suple por una información redundante en la misma célula. Ya se han discutido más arriba las posibilidades de un defecto de este tipo en el xeroderma pigmentado.

PARTE VI - Introducción al HYDROA VACCINIFORME

EL HYDROA VACCINIFORME

Historia

La primera publicación sobre este cuadro clínico corresponde históricamente a Bazin (83) que en 1862 describió el caso de un paciente que presentó después de un paseo al aire libre y de la exposición al sol, malestar general, anorexia y una erupción, inicialmente de partes descubiertas que después se extendió sobre toda la superficie cutánea e incluso mucosa bucal, las lesiones eran inicialmente maculosas pero ya precozmente sobre las mismas se desarrollaron vesículas que recordaban las del herpes; estas vesículas se umbilicaron y formaron costras y cuando esta costra cayó dejaron cicatrices deprimidas. Este enfermo presentó brotes repetidos de lesiones en las mismas circunstancias, la abundancia de cicatrices residuales hacían pensar en una vízuela precedente.

Debido al peculiar aspecto de las cicatrices varioliformes, Bazin denominó a este cuadro "hydroa vacciniforme". Lo que en esta época se entendía por Hydroa está definido por Joseph Frank de la siguiente forma (Bazin)(83): "L'Hydroa, du mot grec "idros", sueur, est caractérisé par des papules ou des pustules de la grosseur d'un grain de mil, qui apparaissent tout d'un coup. s'accompagnent de démangeaisons, sont passagères et se terminent souvent par de petites écailles ou par les croûtes". En esta época según la clasificación de Bazin (83), se consideraba que el hydroa constituía una forma de "Herpes" de causa interna y variedad artrítico crónica, y lo dividía en tres formas clínicas: Hydroa vesiculoso, hydroa vacciniforme e hydroa ampuloso.

LEÇONS THÉORIQUES ET CLINIQUES

sur les

AFFECTIONS GÉNÉRIQUES

DE LA PEAU

PROFESSÉES

PAR LE DOCTEUR E. BAZIN

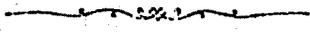
Médecin de l'hôpital Saint-Louis, Chevalier de la Légion d'honneur, etc.

RÉDIGÉES ET PUBLIÉES

Par le Docteur Em. DE BAUDOT

Ancien interne de l'hôpital Saint-Louis.
Lauréat des hôpitaux et de la Faculté de médecine.

REVUES ET APPROUVÉES PAR LE PROFESSEUR.



PARIS

ADRIEN DELAHAYE, LIBRAIRE-ÉDITEUR,

PLACE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE,

1862

Tous droits réservés.

laissent exposées à l'air des ulcérations douloureuses.

Si les douleurs du zona persistent après la disparition de l'éruption cutanée, on les combattra à l'aide des préparations arsenicales, si elles sont consécutives au zona dartreux, et à l'aide des préparations alcalines, si elles font suite au zona arthritique.

— De l'hydroa (1). — Sous le nom d'hydroa, on désigne une affection analogue à l'herpès phlycténodé de Willan, caractérisée par des vésicules ou de petites bulles qui se montrent par groupes placés à des intervalles plus ou moins éloignés. Il n'est pas rare de voir cette affection durer pendant cinq à six mois.

L'hydroa arthritique est l'herpès successif et chronique, qui n'a pas suffisamment attiré l'attention des auteurs. Nous avons observé un assez grand nombre de ces herpès qui se rattachent manifestement à l'arthritisme.

Nous distinguons trois variétés d'hydroa :

- 1° L'hydroa vésiculeux;
- 2° L'hydroa vacciniforme confondu avec l'aphthe chronique (olophlyctide chronique d'Alibert);
- 3° L'hydroa bulleux (pemphigus à petites bulles).

Première variété. — L'hydroa vésiculeux est une affection qui a été confondue généralement par les auteurs avec l'erythema papulatum.

Siège. — L'hydroa vésiculeux se développe sur les téguments cutanés et muqueux. à la peau, il existe ordinairement

(1) L'hydroa étant une affection peu connue des médecins, et au sujet de laquelle se commencent fréquemment des erreurs, j'ai cru devoir reproduire in extenso le chapitre que M. Bazin lui a consacré dans son *Traité des arthritides et des herpétides* (Baudouin).

ment sur les parties découvertes; nous l'avons vu à la face dorsale des mains et des poignets, à la partie antérieure des genoux. Dans la plupart des cas, la muqueuse buccale a été affectée; l'éruption occupe de préférence la lèvre inférieure et la face interne des joues. Cependant, sur un de nos malades, la base de la luette était entourée par un cercle de vésicules. La conjonctive peut être aussi le siège des éruptions que nous étudions.

Symptômes. — L'affection est quelquefois précédée de malaise, d'anorexie et d'un léger mouvement fébrile; mais ces phénomènes prodromiques peuvent manquer, ou être si peu marqués, que l'attention du malade est d'abord attirée par le développement des vésicules.

L'éruption apparaît en premier lieu sur le dos des mains et sur les genoux; elle ne se montre habituellement sur la muqueuse buccale que vers le deuxième ou troisième jour. Toutefois, un de nos malades avait accusé, comme signe prodromique, une légère angine produite par une éruption vésiculeuse de l'isthme du gosier.

Quel que soit le siège de l'éruption, elle présente les caractères suivants: on aperçoit d'abord des taches d'un rouge foncé, petites, arrondies, un peu saillantes et à bords nettement limités. Ces taches ont des dimensions qui varient depuis la largeur d'une lentille jusqu'à celle d'une pièce de 20 centimes; elles sont quelquefois entourées d'une auréole rosée; elles présentent bientôt à leur centre une petite vésicule remplie d'un liquide jaunâtre et transparent. Cette vésicule naît le jour qui suit l'apparition de la tache rouge; elle se dessèche rapidement au centre qui est occupé par une petite croûte noirâtre, tandis que le liquide

est résorbé à la circonférence. Ces phénomènes s'accomplissent vers le deuxième ou le troisième jour de l'éruption.

A cette époque, l'affection prend un aspect particulier : on voit de petits disques rouges supportant à leur centre une croûte noirâtre et entourée d'un liséré blanchâtre, légèrement saillant. Ce liséré est formé par l'épiderme macéré qui, après la résorption partielle du liquide contenu dans la vésicule, est appliqué imparfaitement sur le derme. Au bout de quelques jours, la coloration de la petite tache disparaît, la croûte centrale tombe en laissant une macule violacée qui s'efface lentement.

Sur un de nos malades, l'affection a suivi une marche différente : on aperçut d'abord une petite vésicule arrondie et transparente; autour de la vésicule se montra une auréole rouge qui s'étendit peu à peu du centre à la circonférence, de manière à constituer une petite tache, légèrement saillante, comme celle que nous avons signalée précédemment. Les phénomènes ultérieurs nous sont connus : le liquide placé à la circonférence de la vésicule se résorba, tandis que celui qui en occupait la partie centrale se transforma en une croûte brunâtre.

Enfin, il peut arriver, surtout dans les temps froids, que le fluide exhalé dans la vésicule se résorbe promptement. Il n'y aura dès lors qu'une petite macule blanchâtre ou jaunâtre, placée au centre d'un disque rouge et formée par de l'épiderme décollé. C'est dans ce cas que l'affection a pu être confondue avec *Perythema papulatum*.

Sur les muqueuses, les vésicules sont blanchâtres et entourées d'une auréole violacée; les croûtes se détachent plus promptement.

sujets qui avaient présenté ou présentaient encore des symptômes d'arthritisme.

Diagnostic. — Il est facile de reconnaître l'hydroa vésiculeux par les caractères que nous venons de donner. Cependant cette affection a été confondue et pourrait l'être encore avec l'érythème papuleux et l'herpès.

Dans l'érythème papuleux, on observe parfois une vésicule sur le sommet de quelques-unes des saillies rouges qui constituent l'éruption. Mais dans cette affection, la vésicule n'est qu'un symptôme accessoire; elle ne présente pas l'évolution de la vésicule de l'hydroa que nous avons décrite avec beaucoup de soin.

L'herpès est caractérisé par des vésicules groupées sur une base enflammée; il est souvent accompagné de symptômes généraux. Dans l'hydroa, chaque vésicule repose sur une petite tache violacée et parfaitement distincte; les symptômes généraux font défaut le plus ordinairement.

Nature. — L'hydroa vésiculeux est une affection essentiellement arthritique; du moins l'avons-nous toujours rencontré chez des sujets arthritiques; il a présenté constamment des rapports évidents avec des manifestations de l'arthritisme.

Pronostic. — Cette affection n'a aucune gravité; elle disparaît spontanément au bout de quatre à cinq semaines. On sait qu'elle est sujette à récidiver.

Traitement. — On devra se borner à prescrire des bains alcalins et à employer des moyens hygiéniques; on recommandera simplement le repos, un régime doux et des boissons diurétiques.

Deuxième variété. — L'hydroa vacciniiforme n'est pas

Les disques rouges et vésiculeux sont plus ou moins nombreux. Ils sont séparés habituellement par des parties de peau saine; quelquefois ils sont disposés par groupes de deux à trois et se touchent par leur circonférence. Ils n'apparaissent pas tous simultanément, mais par poussées successives pendant plusieurs jours. Les parties affectées présentent à peine quelques démangeaisons. Les phénomènes fébriles, qui existent rarement au début, cessent dès que l'éruption se développe.

Chez nos malades, l'affection s'est montrée successivement sur les genoux et le dos des mains, puis sur la muqueuse buccale, et en particulier sur la face interne de la lèvre inférieure. Dans un cas, ainsi que nous l'avons dit, on voyait une couronne de vésicules à la base de la lèvre.

Durée et terminaison. — La durée de l'hydra vésiculeux est de deux à quatre septénaires; chaque élément éruptif pris en particulier parcourt son évolution en quatre ou cinq jours. L'affection ne se prolonge pendant plusieurs semaines que par l'existence des poussées vésiculeuses. La récurrence peut avoir lieu; nous l'avons observée à différentes reprises.

Étiologie. — L'hydra se montre dans les deux sexes, mais plus souvent dans le sexe masculin.

Il se développe chez les adultes vers l'âge de vingt à trente ans.

Il est plus fréquent au printemps et à l'automne; le froid et les variations de température ont une influence marquée sur son apparition et sa marche.

Enfin, cette affection s'est toujours manifestée chez des

No hay una nueva referencia en la literatura sobre esta enfermedad hasta 1878 en que Hutchinson (84) recoge las historias clínicas y datos histológicos de 14 enfermos que presentaron erupciones de partes descubiertas, que se desencadenaban o agravaban en tiempo caluroso y por la exposición al sol. Las observaciones recopiladas fueron calificadas por este autor como "prurigo aestivalis", "prurigo adolescentium o acné prurigo". Es muy posible que alguno de estos casos correspondiera al cuadro descrito por Bazin en su obra (83). Otros en cambio eran muy diferentes. Con este trabajo quedó establecida sin embargo otra entidad caracterizada también por su fotosensibilidad que ha conservado su individualidad hasta la actualidad: el llamado "summer prurigo de Hutchinson".

Hasta diez años más tarde no se produce una nueva referencia con el trabajo publicado por Jamieson (85) en 1888. Dicho autor presentó dos casos de "Hydroa vacciniforme" ante la British Medical Society, exponiendo la hipótesis de que se trataba de una entidad relacionada con el xeroderma pigmentosum. En el mismo año Hutchinson (16) presentó un nuevo caso de hydroa con el calificativo de "erupción recurrente, forma clínica del xeroderma pigmentosum". Este autor propuso el establecimiento de un grupo de entidades con un denominador común, la fotosensibilidad. En este grupo incluía Hutchinson el "summer prurigo" como forma leve, el hydroa vacciniforme como forma intermedia y finalmente el xeroderma como forma grave.

En 1889 Handford (87) publica un nuevo caso típico adoptando ya la denominación propuesta por Bazin, de "Hydroa vacciniforme",

Este cuadro clínico pasó sin embargo desapercibido por algún tiempo hasta que Radcliff Crocker (88) revisando los 16 casos que hasta entonces se podían considerar como indiscutibles, estableció de una forma más definitiva la individualidad de esta entidad con una excelente descripción clínica denominándolo "Hydroa vacciniforme seu Aestivale".

Posteriormente Brocq tiene oportunidad de recoger un nuevo caso y en tal ocasión publica una memoria con la descripción, revisión y discusión de los casos publicados hasta este momento (1894).

En 1907 Besnier, Brocq y Jaquet (90) publican siete casos de diversos autores y en ellos basan la descripción de este cuadro clínico que consideran perfectamente individualizado en la extensa obra "La Practique Dermatologique".

A los 30 años de la descripción inicial de Bazin, el Hydroa vacciniforme había adquirido ya una cierta personalidad y su diagnóstico se hacía con relativa frecuencia. Sin embargo persistía una cierta confusión debida a las descripciones de Unna (91) y Hease y Hirschler (92) y al uso muchas veces indiscriminado de las denominaciones de "hydroa vacciniforme", "hydroa aestivale", "summer prurigo" y "recurrent summer eruption".

En 1923 Senear y Fink (93) realizan una revisión completa de la situación del tema y realizan un intento de clarificar conceptos. Estos autores aportan nuevos datos sobre esta enfermedad tales como la posible localización de lesiones en mucosas, las lesiones ungueales y en el estudio exhaustivo del cuadro clínico de la entidad, estableciendo diversas modalidades eruptivas: la forma vacciniforme clásica, la forma ampollosa y vacciniforme, la forma impetigoide, la vesico-pustulosa, la pustulosa abortiva y la ampollosa pura. En cada una de estas variedades las lesiones cicatriciales residuales oscilan en intensidad o incluso pueden faltar en absoluto.

Si bien ya existían informaciones más o menos detalladas sobre la histología de las lesiones de Hydroa, Bowen, 1894 (94) y Mibelli, 1896 (95), Eddowes 1902 (96), Wolters, 1907 (97), Senear y Fink estudian detenidamente el cuadro histológico en su enfermo y efectúan una valoración de conjunto de todos los hallazgos histológicos recogidos.

En cuanto a la etiopatogenia del proceso, estos autores exponen varias teorías que demuestran el confucionismo existente sobre todo en un aspecto muy importante cual es la falta de delimitación con las porfirias. Sin embargo, por otra parte recogen ya los primeros intentos de estudio fotobiológico realizados por Graham (98) y especialmente por Ehrmann (99), el primer autor que logró reproducir experimentalmente una lesión típica de hydroa mediante una lámpara de Finsen y un filtro azul. Estas experiencias fotobiológicas no convencen a Senear y Fink que no creen que la acción de la radiación solar quede como factor único, definitivo, e insisten en la actuación conjunta de diversos factores climáticos combinados.

Hasta el trabajo de Mac Grae y Perry (1963)(100), los cuales realizaron una nueva revisión completa de los conocimientos sobre el hydroa estudiando 22 casos publicados desde 1935 y siete casos personales, no se llega a la total delimitación del hydroa con respecto a las Porfirias, ya que en sus enfermos pudo ser excluida, fuera de toda duda, su presencia en sangre, heces y orina. A esta publicación ha seguido otras como la de Langhof y col. (101), Graciansky y col. (102), Scerrato y Milano (103), Dulanto y col. (125) y Miura y col. (104), que han contribuido a individualizar plenamente este cuadro clínico. La última revisión corresponde a Jaschke, Reinken y Frisch (105) que recogen 11 nuevos casos.

Es de interés señalar las comunicaciones aparecidas en 1960 (106) y 1971 (107) que reportan la aparición de hydroa en dos gemelos homocigotes en el primer caso y en tres hermanos de una familia en el segundo. Queremos resaltar este hecho por el factor genético que puede suponerse implicado en esta entidad.

Con los datos aportados por los autores que han trabajado sobre el hydroa vacciniforme desde la primera descripción de Bazin puede llegarse a la conclusión de que el Hydroa vacciniforme es una entidad clínica bien de finida y limitada por las siguientes características.

Cuadro clínico

Los trazos fundamentales del cuadro clínico del Hydroa vacciniiforme ya quedaron claramente establecidos a partir de la primera descripción de Bazin.

- 1) Aparición de los síntomas después de una exposición al aire libre o al sol.
- 2) Localización en partes descubiertas con eventual interesamiento de la mucosa bucal.
- 3) Síntomas generales muy ligeros.

La erupción comprendía, 1ª) aparición de máculas eritematosas sobre las que precozmente se desarrollan vesículas transparentes que recordaban las del herpes, 2ª) las vesículas se umbilicaban y desembocan a la formación de una costra que al desprenderse dejaba una cicatriz deprimida, 3ª) el acúmulo sucesivo de cicatrices residuales daba a los enfermos el aspecto de haber sufrido una viruela.

Estos trazos fundamentales permitían ya caracterizar una entidad clínica, pero ello no evitó una serie de confusiones con otros cuadros clínicos distintos (porfirias, dermatitis porlimorfa lumínica, etc.) Senear y Fink en 1923 (93) hicieron una revisión de los casos publicados, efectuando la primera labor de expurgación para lograr una mayor individualización del Hydroa. El trabajo de Senear y Fink constituye en realidad una compilación debidamente valorada de los conocimientos hasta 1923 que como se puede deducir de la lectura de su artículo abarca ya un volumen considerable. Los datos aportados por estos autores pueden concretarse de la siguiente forma:

- 1) Se presenta fundamentalmente en primavera y verano o al menos adquiere

su mayor brevedad en estos meses y en algunos casos puede incluso empeorar en invierno (White)(108). Marzo y abril son los meses en que habitualmente debutan las lesiones, hay recidivas que se prolongan hasta otoño o invierno. Generalmente las lesiones remiten en agosto o septiembre. 2) La distribución de las lesiones es característica. Las partes expuestas, pabellones auriculares, nariz, zona del vespertilio, dorso de manos, son las mayormente afectadas. En algún caso puede llegar a afectarse la córnea, las mucosas y las láminas ungueales.

Entre estas diversas polaridades hay innumerables formas intermedias. Estos autores intentaron resumir estas variantes en los siguientes apartados:

- 1) hydroa vacciniforme clásico
- 2) hydroa ampuloso y vacciniforme
- 3) forma impetigoide y vacciniforme
- 4) forma impetigoide pura
- 5) forma papulovesiculosa
- 6) forma vesiculo-pustulosa
- 7) forma pustulosa abortiva
- 8) forma ampulosa pura

Según las diferentes modalidades, las cicatrices residuales eran diversas, vacciniformes, varioliformes, deformantes de gran tamaño, en concha, cicatrices mínimas, etc.

La enfermedad se presenta generalmente en la infancia o adultos jóvenes con preferencia por el sexo masculino de 2/1, y con un 10% de incidencia familiar.

La compilación de los datos más recientes sobre esta entidad determinan que su cuadro clínico quede concretado a la siguiente descripción:

El hydroa vacciniforme constituye una erupción recurrente vesiculosa de partes expuestas que deja cicatrices residuales. No existe ninguna relación con las porfirias, se presenta fundamentalmente en la infancia con predilección por el sexo masculino y cursa de forma crónica aunque de forma auto-limitativa.

Los límites actuales de la enfermedad quedan establecidos no solo por el cuadro clínico, sino también por los aspectos histológicos y los resultados de las investigaciones fotobiológicas (a diversos niveles). Centrándonos antes de pasar al segundo y al tercer punto, aún en el cuadro clínico la entidad queda caracterizada por presentarse en la primera infancia (20% de los casos) o pocos años antes de la adolescencia (80% de los casos). Afecta ambos sexos (proporción sexo masculino/femenino: 2/1). No se ha observado en la raza negra aparentemente. No se puede afirmar su naturaleza hereditaria aunque algunos datos indican la posibilidad de una gen de carácter recesivo o dominante según los casos (Miura)(104).

La erupción se presenta en forma de grupos de pápulas lenticulares que rápidamente se transforman en pequeñas vesículas que se umbilican, se hacen purulentas, posteriormente se secan formando una costra y al desprenderse ésta dejan una cicatriz deprimida que recuerda a la viruela. La transformación en vesículas se produce en unas 6-12 horas.

Los brotes se presentan a las 8-12 horas después de la exposición al sol en algunas ocasiones precedidos de una fase prodrómica de malestar, ligero dolor, intranquilidad y sensación de prurito o quemazón en las zonas afectas. Excepcionalmente pueden presentarse síntomas gastrointestinales en

forma de cólico, dolor, náuseas o vómitos. Puede también haber febrícula. La erupción se presenta tras estos prodromos generalmente a nivel de mejillas, dorso de la nariz, pabellones auriculares y dorso de manos. En casos excepcionales se afecta cuero cabelludo, tronco, labios, conjuntivas y extremidades inferiores.

Las cicatrices clásicas blanquecinas deprimidas se hallan en aquellos puntos en donde se ha localizado una lesión vesiculosa.

La afectación ocular produce cicatrices conjuntivales y en algunos casos úlceras corneales. A estas lesiones puede seguir una queratosis (Sce-rrato y Milano)(103).

Como hemos podido comprobar en nuestros enfermos existen variedades clínicas en el sentido que ya mencionaba Senear y Fink (93) en forma de grandes ampollas con escaras y profundas, engastadas, de más de 1 cm. de diámetro y lesiones mínimas como cabezas de alfiler con necrosis mínimas. En otros casos la cara puede quedar relativamente libre, centrándose las lesiones en los pabellones auriculares (confusión con la dermatitis vernalis aurium).

Otros casos adquieren el aspecto impetigoide ya indicado por Senear y Fink con lesiones vesiculosas que se extienden periféricamente, haciéndose incluso hemorrágicas y con costras purulentas. En estos casos la confusión con el impétigo es fácil, dado que las lesiones de Hydroa pueden persistir aún en forma atenuada en invierno.

Finalmente indiquemos que las formas mínimas constituirían la denominada "Hydroa aestivale".

Toda esta variedad clínica hace ciertamente difícil el evitar confusiones de este cuadro clínico, también actualmente con la erupción polimorfa

lumínica pero aparte del cuadro clínico poseemos la ayuda de dos parámetros más.

Histología

El primer estudio se debe a Bowen en 1894 (94) que describe que en las lesiones los estratos superiores de la capa córnea están conservados en tanto que los más profundos y el cuerpo de Malpighio se hallan completamente necrosados y convertidos en un tejido de aspecto reticular relleno por detritus y algún leucocito. La necrosis penetraba profundamente hacia el corion con destrucción de fibras y células y formación de grandes espacios ocupados por edema y detritus. En el dermis papilar los vasos se hallaban dilatados con paredes necrosadas y llenos de elementos formes que a veces se extravasaban a las zonas próximas al tejido necrótico. La lesión necrótica estaba perfectamente limitada con bordes recortados en todo el contorno sano. La epidermis adyacente se hallaba ligeramente engrosada y en el corion a una cierta distancia de la zona necrótica se observaba una infiltración de células redondas.

Fundándose en estos hallazgos Bowen concibió la siguiente hipótesis sobre la secuencia de los procesos patológicos. La primera lesión sería una inflamación de la epidermis y corion superior con formación de una vesícula a nivel del estrato mucoso. Subsiguientemente se produciría necrosis de la epidermis y corion subyacente. El corion necrótico se vuelve visible clínicamente con sus vasos dilatados y necrosados y los focos hemorrágicos dando lugar a las imágenes de las lesiones punteadas rojo-violáceas objetivamente comprobables en el enfermo.

Las subsiguientes investigaciones llevadas a cabo por diversos autores fueron aportando nuevos datos. Así Mibelli en 1896 (95) indica que los fenómenos epidérmicos no son el resultado de la necrosis o licuefacción de las propias células epidérmicas sino que se producen por dilatación de los espacios intercelulares y compresión aguda de las mismas. En las lesiones del corion Mibelli subraya el papel del infiltrado y de las lesiones de los vasos. Como consecuencia deduce que el proceso histopatológico es consecutivo a una vasodilatación en el dermis superficial. Eddowes (96) confirma estos datos en 1902 y define el proceso desde el punto de vista histológico como una inflamación edematosa necrogénica iniciada en el corion y afectando secundariamente a la epidermis.

Los estudios posteriores de Wolters (97), Constantin (109), Malinoski (110), Moller (111) y Senear y Fink (93) no aportaron mayores novedades. Si nos trasladamos a los trabajos más recientes tenemos en primer lugar a Mc Grae y Perry (100) que aportan los datos de 7 exámenes histológicos y mantienen la idea de que la lesión vesiculosa de la epidermis se forma por una necrosis focal de la misma y del dermis subyacente sin establecer ninguna relación entre ambos fenómenos. El contenido de la vesícula es variado, mayor o menor cantidad de suero, leucocitos, fibrina y detritus epiteliales. La zona necrótica queda rodeada por un infiltrado polimorfonuclear y linfocitario que profundiza en la dermis disminuyendo progresivamente su densidad a medida que se aleja de la misma. El infiltrado rodea especialmente los vasos. Las biopsias practicadas sobre lesiones no vesiculosas mostraban en la epidermis una ligera hiperqueratosis y acantosis, edema intracelular e infiltración perivascular de células redondas en la dermis.

Evidentemente estas investigaciones más amplias del cuadro histológico no aportan mayores novedades ni permiten establecer ninguna hipótesis patogénica determinada. Los autores no aventuran conclusiones a partir de sus hallazgos histológicos.

Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial debe realizarse en estos casos frente a las porfirias, el xeroderma pigmentosum y la erupción polimorfa lumínica. Aunque hace unos años la confusión del hydroa con las porfirias ha constituido el principal punto de discusión en ese capítulo y si el diagnóstico clínico puede ofrecer a veces algunas dificultades, especialmente con la protoporfiria eritropoyética, en la actualidad las determinaciones de laboratorio de porfirinas en sangre, heces y orina nos permiten fácilmente la exclusión de esta enfermedad. Similitudes clínicas notables han sido relatadas en las observaciones de Kosenor y Treibs (112), Langhof y col. (113) y Redeker y Brenov (114).

En la actualidad existe una tendencia a considerar el hydroa como una forma clínica de la erupción polimorfa lumínica, especialmente la modalidad papulovesiculosa y la variante vesiculosa consideradas por algunos como hydroa "aestivale" o forma minor no cicatricial del hydroa vacciniforme.

Evidentemente creemos que la diferencia es absoluta por cuanto el hydroa carece por el momento de un patrón de fotosensibilidad determinado como el propio de la erupción polimorfa lumínica y por otra parte el cuadro histológico es completamente distinto por cuanto las lesiones en la erupción polimorfa lumínica quedan limitadas a la dermis sin afectar secundariamente a la epidermis.

No debemos olvidar la forma "summer prurigo" de Hutchinson que también se ha confundido muchas veces con el hydroa ya en el momento de su descripción por Hutchinson como posteriormente en los tratados y en algunos artículos de tema fotobiológico. El polimorfismo de las lesiones, la ten-

dencia a la liquenificación y su aspecto más eczematoide permiten ya una clara diferenciación desde el punto de vista clínico. Histológicamente en esta entidad nos encontraremos con lesiones de espongiosis epidérmica, acantosis e infiltrados discretos linfocitarios en dermis sin edema o necrosis. La exploración fotobiológica permite el establecimiento de patrones de sensibilidad limitados a las radiaciones eritematógenas o extendiéndose a toda la banda ultravioleta hasta 360 nm.

Pronóstico y tratamiento

El hydroa tiene un pronóstico benigno, constituyendo una entidad autolimitada y en esta opinión ha habido siempre coincidencia de todos los autores. Los brotes se hacen menos frecuentes después de la pubertad y tienden a desaparecer entre los 20 y 36 años, aunque en algunos casos puedan prolongarse mayormente. Incluso en algunos pacientes el número de brotes puede ser limitado apareciendo durante dos o tres veranos y curando posteriormente.

El tratamiento de esta entidad constituye un capítulo de gran variedad. Todos los autores han coincidido en dar a los enfermos tratamientos tópicos filtrantes aunque siempre con poca eficacia en su resultado. En cambio el tratamiento por vía general ha sido ensayado con las más diversas sustancias aunque las que mayor predicamento han tenido son los antipalúdicos de síntesis y el para-aminobenzoato potásico.

Etiopatogenia

La etiopatogenia de este proceso es el capítulo más oscuro del hydroa fundamentalmente debido a la confusión que prevaleció durante mucho tiempo

con las porfirias, debida en gran parte a las dificultades de laboratorio que existían en aquel entonces. Bazin en su tratado solo mencionaba que la enfermedad se desarrollaba mayormente entre la primavera y el otoño y estaba influenciada por factores climáticos tales como las variaciones de temperatura. De esta forma se inicia la hipótesis de una etiología física de la entidad. Pero durante mucho tiempo esta ha sido solo una de las dos vertientes en que se han dividido las hipótesis etiológicas del hydroa. Desde 1898 con Mac Gall Anderson (115) hasta 1963 con el trabajo de Mac Grae y Perry (100) se extiende un período en el que existió el mayor confusiónismo entre el hydroa y las porfirias. En una fecha tan reciente como 1940, Fischer (116) se atrevía aún a afirmar que no había hydroa sin porfirinuria.

La época en que apareció el trabajo de Seneary y Fink (93) constituye el momento de mayor equilibrio entre las dos vertientes etiopatogénicas. Según estos autores fueron MacCall y Anderson (115) los que hallaron porfirinuria casualmente en un paciente observado y diagnosticado de hydroa. En aquella época las determinaciones eran muy rudimentarias y se limitaban a la determinación de la excreción de una sustancia denominada hematoporfirina de la que se demostró experimentalmente su acción fotosensibilizante (Hausmann, 1910 (117)). Este autor consiguió provocar en ratones blancos que desarrollaban una porfirinuria, lesiones similares clínicamente a las del hydroa tras exposición a la luz y hallazgos que también correspondían en la posterior comprobación histológica. Los subsiguientes resultados de la imagen de porfirinuria son muy variados. Unos autores (Perutz 1917)(118) hallan porfirinógeno y Seneary y Fink (93) recogen entre un total de 80, 14 casos con hematoporfirinuria. En 1963, Mac Grae y Perry (100) basándose en 22 casos recogidos de la literatura y 7 observaciones personales de la Clínica Mayo realizan una expurgación de observaciones dudosas basándose como factor en el metabolismo porfirínico. Estos autores

reducen las posibilidades etiopatológicas al factor lumínico.

La etiopatogenia lumínica del hydroa ya fué sospechada por Ehrmann (99) que inició los estudios experimentales de los efectos de las radiaciones sobre los pacientes con hydroa. Este autor exponía partes de piel habitualmente cubiertas a una lámpara de Finsen con filtro azul, con lo que conseguía la reproducción de la lesión típica. Estas experiencias le permitieron llegar a la conclusión de que las radiaciones ultravioletas cortas producen sobre personas sensibilizadas la aparición de lesiones de hydroa. Los resultados posteriores como veremos más adelante han confirmado las observaciones de Ehrmann por lo que su labor adquiere singular interés.

Otros autores se centraron en el estudio del papel de otros factores atmosféricos sin que sus observaciones tengan mayor interés por cuanto se trata de datos poco objetivables relativos a la acción del viento. Sin embargo Senear y Fink (93) concluyen que en un 80% de los casos en que el paciente ha manifestado la supuesta causa de su erupción la radiación solar es la incriminada, sola o bien en concomitancia con otros factores climáticos.

Si bien las experiencias sobre la acción de las radiaciones y su acción sobre los enfermos afectos de hydroa no cesaron de realizarse, no recogemos ninguna referencia determinada hasta 1940 en que Tedeschi y Parisi (9) en un caso realizan una exploración fotobiológica extensísima y compleja basándose en anteriores referencias de Radaeli y Buquicchio. Llegan a producir lesiones ampollasas con irradiaciones sin filtro una lámpara de Kromayer (caso de Zarofonetis)(120).

Las experiencias continuaron hasta llegar a Schiff y Hillson (14) que exploran a un paciente mediante una técnica perfectamente estandarizada con los siguientes resultados:

Con lámpara de arco de carbón y filtro Corning 9863 MED normal, con el DED provocan la aparición sucesiva de eritema, papulación y vesiculación, el DED era sin filtro. El DED con luz filtrada por cristal de ventana produjo solo eritema fugaz. La irradiación de una lámpara de cuarzo también dió lugar a una respuesta vesiculosa. El examen histológico de las lesiones provocadas no permitió apreciar el hecho de que el cuadro patológico fuera comparable al de las lesiones provocadas espontaneamente.

Otras experiencias fueron realizadas con radiaciones diferentes de las lumínicas, como las de Epstein (122). Este autor logró la reproducción de las lesiones mediante la aplicación sobre la piel de un enfermo con hydroa de Thorio X (radiación de 253,7 nm.) hecho de especial interés por cuanto abre una nueva vía etiopatogénica, la posibilidad de que éste fuese producido a base de una alteración de los mecanismos celulares antiirradiación. Finalmente hemos de mencionar la revisión efectuada por Mac Grae y Perry (100) que de los 22 casos de la literatura revisados, encuentran 12 con alguna exploración fotobiológica efectuada de los que 9 dieron resultados normales. Los casos con alteraciones son los ya mencionados de Tedeschi y Parisi (119), Zarafonetis (120) y Schiff y Jillson (121), sin que ellos personalmente aporten ningún dato más al respecto.

Como resulta evidente de los datos recogidos en este apartado relativo a la etiopatogenia, este aspecto del estudio del hydroa dista mucho de estar perfectamente aclarado.

PARTE VII - INVESTIGACIONES PERSONALES EN EL HYDROA

Material y métodos

Como ya indicábamos hemos tenido la posibilidad de estudiar los siguientes casos de Hydroa vistos en el Dispensario de Dermatología de la Facultad de Medicina de Barcelona durante el período 1968-1974. La referencia de los mismos es como sigue.

Estudio clínico

Caso nº 1: E.C.G., varón de 10 años.

Antecedentes familiares: Sin interés.

Antecedentes personales: Sin interés.

Enfermedad actual: Desde los tres años de edad el enfermo presenta en primavera y mayormente en otoño, brotes de lesiones eritemato-vesiculo ampollas en partes descubiertas (cara, dorso manos, antebrazos, regiones pre-tibiales) que desaparecen en invierno. Los padres relacionan los brotes con las exposiciones repetidas al sol. Las lesiones evolucionan espontáneamente a costras que posteriormente curan, dejando lesiones cicatriciales deprimidas. Los brotes se acompañan a veces de fiebre y cefalea y pequeñas molestias subjetivas locales (sensación de quemazón).

Exploración de piel y mucosas: En cara, pabellones auriculares, dorso de manos y antebrazos, múltiples lesiones papulo-eritematosas y vesiculosas de diversos tamaños, con algunos elementos mayores de carácter ampolloso. Junto a ello hay lesiones costrosas serohemorrágicas. Entremezcladas con las lesiones activas se observan cicatrices residuales redondeadas deprimidas varioliformes muy evidentes.

No hay lesiones conjuntivales ni de mucosa bucal.

Caso nº 2: J.V.LL., hembra de 17 años.

Antecedentes familiares: Sin interés. No hay antecedentes de atopia.

Antecedentes personales: Sin interés.

Enfermedad actual: Desde hace 10 años y coincidiendo al parecer con las exposiciones solares aparecen en la cara y pabellones auriculares, dorso de manos y antebrazos lesiones eritemato-papulosas que posteriormente se convierten en vesiculo-ampollosas. Las lesiones se secan y curan con discreta cicatriz. Los brotes se han ido reproduciendo en primavera y verano persistiendo lesiones activas a lo largo de estas estaciones.

Exploración de piel y mucosas: En dorso de nariz, lesiones papulo-vesiculosas y erosivas y en el resto de la cara lesiones cicatriciales puntiformes residuales que dan lugar a un aspecto picoteado.

Caso nº 3: I.C.R., varón de 9 años.

Antecedentes familiares: Sin interés.

Antecedentes personales: Sin interés.

Enfermedad actual: Desde 1968, hace 5 años aparecen en la cara brotes de lesiones papulo-vesiculosas con algunos elementos que llegan a transformarse en ampollosos. Las lesiones se secan dejando una pequeña cicatriz. Los brotes no presentan ritmo estacional.

Exploración de piel y mucosas: En toda la cara lesiones papulovesiculosas o ampollosas entremezcladas en algunos puntos con pequeñas atrofas puntiformes residuales.

Caso nº 4: J.P.B., varón de 19 años.

Antecedentes familiares: Sin interés.

Antecedentes personales: Sin interés. No atopia.

Enfermedad actual: Hace 4 años inicia brotes repetidos de lesiones eritematosas papulosas que posteriormente se hacen vesiculosas y se cubren con una costra necrótica. Estas lesiones suelen ser más profusas en la región periocular. Curan posteriormente dejando una cicatriz varioliforme. Los brotes se acompañan de sensación de dolor o quemazón, y duran de dos a tres semanas. No se observa ritmo estacional ni relación evidente con factores externos.

En 1970 uno de los brotes se acompañó de una epiescleritis nodular y en 1973 de la aparición de algunas lesiones nodulares en piernas.

A pesar de los innumerables tratamientos prescritos, los brotes se han repetido de forma constante hasta la actualidad.

Exploración de piel y mucosas: En frente, región periocular y región centrofacial lesiones papuloeritematosas y vesiculosas algunas con una cubierta francamente necrótica de tamaños oscilantes entre 1-3 mm. de diámetro.

Caso nº 5: J.L.R., hembra de 9 años.

Antecedentes familiares: Sin interés. No atopia.

Antecedentes personales: Sin interés.

Enfermedad actual: Hace cuatro años (1969) inicia en primavera brotes vesiculosos en cuero cabelludo, con pequeñas lesiones vesico-costrosas miliares en la región frontal que curaron espontáneamente en unos ocho días. A finales del verano siguiente aparecen también lesiones en dorso de las manos y finalmente en cara (región del vespertilio). En invierno las lesiones desaparecieron sensiblemente, pero siguieron brotando pequeños elementos miliares en la cara.

En los últimos años los brotes se han repetido aumentando en intensidad en primavera y verano haciéndose las lesiones cada vez mayores (hasta algunos cms. de diámetro) y su evolución más prolongada (hasta un mes) dejando

al curar cicatrices varioliformes.

Exploración de piel y mucosas: En región centrofacial, dorso de nariz, pabellones auriculares y dorso de manos, lesiones eritematosas vesiculosas ampollosas y costrosas de tamaño que oscila entre 0,5-2 cm. entremezcladas con lesiones cicatriciales atróficas y deprimidas.

Caso nº 6: A.N.F., hembra de 6 años.

Antecedentes familiares: Abuelo paterno con diabetes. Resto sin interés
No atopia.

Antecedentes personales: Sin interés.

Enfermedad actual: A los dos años de edad inicia brote de lesiones papulosas vesiculosas en la comisura bucal que se extienden posteriormente para alcanzar toda la región peribucal. El primer brote se presentó en verano, pero se han ido sucediendo más tarde durante todo el año, apareciendo lesiones también en la región periocular y ventanas nasales. Los brotes se han ido repitiendo hasta la actualidad sin ritmo estacional, con intervalos muy cortos, de unos pocos días.

Exploración de piel y mucosas: En la región perioral, alas nasales, párpados y parte superior de las mejillas, lesiones papulo-pustulosas y papulo-costrosas del tamaño de una cabeza de alfiler o algo mayores. En algunos puntos llegan a confluír formando placas.

Caso nº 7: J.V.Z., varón de 7 años.

Antecedentes familiares: Sin interés.

Antecedentes personales: Encefalitis. Ictericia.

Enfermedad actual: Desde hace dos años presenta brotes de lesiones eritematosas, papulo-vesiculosas que se hacen posteriormente costrosas. Estas lesiones se localizan en región centrofacial, pabellones auriculares y dorso de manos. Se acentúan en primavera aunque se presentan durante todo el año sin ritmo estacional marcado. Los padres no han observado relación evi

dente con las exposiciones al sol. Algunas lesiones curan dejando cicatrices deprimidas.

Exploración de piel y mucosas: En la región vespertilio, borde del hélix y dorso de manos, lesiones eritematosas, vesiculosas o costrosas, múltiples aisladas y de tamaño variable entre unos mms. a un máximo de 1 cm. de diámetro.

Caso nº 8: H.G.G., hembra de 19 años.

Antecedentes familiares: Sin interés. No atopia.

Antecedentes personales: Sin interés.

Enfermedad actual: Desde los tres años de edad y siempre con mayor intensidad durante el verano aparecen brotes de lesiones papulosas pruriginosas en partes expuestas al sol. Desde los 14 años y coincidiendo con la menarquia se han intensificado con aparición de lesiones ampollas y costrosas. Las lesiones de cara y dorso de las manos persisten actualmente incluso en invierno. La enferma no relaciona directamente la aparición de sus lesiones con las exposiciones al sol.

Exploración de piel y mucosas: En cara, escote, espalda, brazos y antebrazos se observan múltiples lesiones papulosas, ampollas y costras de tamaño oscilando entre 2-4 mm. de diámetro. Muchas de ellas están excoriadas por el rascado y también se observan lesiones residuales cicatriciales superficiales y máculas pigmentarias amarronadas.

Caso nº 9: M.B.C.E., hembra de 8 años.

Antecedentes familiares: Abuelo paterno y materno con atopia.

Antecedentes personales: Aftas bucales de repetición.

Enfermedad actual: Desde los 4 años de edad presenta brotes de lesiones papulosas a veces vesiculosas en cara y pabellones auriculares, las lesiones evolucionan durante un tiempo variable y curan sin dejar aparentemente cicatriz. Los brotes son más intensos en verano, aunque no muestran un ritmo estacional evidente.

Exploración de piel y mucosas: En regiones malares y bordes de pabellones auriculares, lesiones papulosas eritematosas múltiples diseminadas, mínimas como cabezas de alfileres. Se observan además algunas cicatrices deprimidas varioliformes.

Caso nº 10: M.V.G. hembra de 12 años.

Antecedentes familiares: Sin interés.

Antecedentes personales: Sin interés.

Enfermedad actual: Desde la edad de 3 años presenta brotes de lesiones eritematosas pruriginosas que obligan a rascarse produciéndose excoxiaciones.

Exploración de piel y mucosas: En la cara, especialmente región centrofacial lesiones eritematosas papulovesiculosas de aproximadamente 1 mm. de diámetro algunas excoxiadas y recubiertas por una costra. En dorso de manos lesiones similares de tamaño mayor. Asimismo entre estas lesiones se observan pequeñas máculas cicatriciales residuales.

ESTUDIOS REALIZADOS

En el presente trabajo de investigación se procedió al estudio de los casos de Hydroa referidos, siguiendo la siguiente pauta de trabajo:

-107-

1) Histología

En estos enfermos se procedió al estudio histológico de las lesiones en los casos, 1,2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, y 10. Asimismo aparte del estudio histológico de múltiples lesiones de cada caso se procedió al examen histológico de las pruebas de provocación (DED) así como el estudio mediante el examen por inmunofluorescencia directa.

2) Fotobiología clínica

El estudio fotobiológico de estos enfermos comprendió la práctica de las siguientes exploraciones realizadas según las técnicas especificadas en la introducción:

- a) Estudio del MED.
- b) Prueba de provocación del DED.
- c) Estudio de la acción espectro.
- d) Prueba de la sensibilidad a la luz fluorescente.

3) Otras exploraciones

En estos enfermos se procedió además a la práctica de las siguientes determinaciones:

- a) Screening de porfirinas en sangre, heces y orina (técnica de Rimington).
- b) Aminoaciduria.

4) Estudio de los mecanismos de reparación del DNA según método de Cleaver J.E. que más adelante describiremos.