

**Centro de Investigaciones Biomédicas Victoria de Girón
ICBP Victoria de Girón**

**ALTERACIONES DEL BALANCE OXIDATIVO DE LA PIEL CON LA EXPOSICION A
LAS RADIACIONES ULTRAVIOLETAS SOLARES**

*Lic. Lucía Fariñas. lucia.farinas@infomed.sld.cu
**Lic. Orlando Jorge Castellano. mercedes.meléndez@infomed.sld.cu
***Dra. María Elena González. marilo@infomed.sld.cu
****Dra. Mercedes Meléndez. mercedes.meléndez@infomed.sld.cu
*****Lic. María Dolores Dujarric. marilo@infomed.sld.cu
*****Dr. José Carlos García. jcarlos@infomed.sld.cu

*Lic. en Biología. Investigador agregado.
**Lic. en Biología. Investigador auxiliar.
***Especialista Primer Grado en Bioquímica. Investigadora agregada. Centro Internacional de Restauración Neurológica. Ciudad de La Habana, Cuba.
****Especialista en Histología. Asistente. Investigador aspirante.
*****Lic. en Biología. Investigador agregado.
*****Especialista Segundo Grado en Bioquímica. Dcs. en Ciencias Médicas. Investigador titular.

Centro de Investigaciones Biomédicas "Victoria de Girón", ICBP "Victoria de Girón", Calle 146, esquina a 31, núm. 3102, C.P. 11600, Cubanacán, Playa, Ciudad de La Habana. Cuba,
Fax : (53-7) 337853
Telef : (53-7) 2715280
Email : lucia.farinas@infomed.sld.cu

RESUMEN

La incidencia cada vez mayor de alteraciones de la piel en el humano se relaciona estrechamente con la exposición a las radiaciones solares, en el sentido de los efectos adversos que provoca las radiaciones ultravioletas (rUV) contenidas en ellas. Entre los principales efectos inducidos por la rUV, se destacan el incremento en la formación de especies reactivas del oxígeno y una disminución de la capacidad antioxidante de la piel, que conduce al aumento en la incidencia de lesiones premalignas y malignas. El efecto tanto local como sistémico inducido por las rUV se relaciona con la supresión de la inmunidad tumoral. Existe una amplia relación entre las rUV A y los cambios asociados al fotoenvejecimiento. En el presente trabajo se brinda una actualización de los hallazgos más recientes y se exponen nuestras consideraciones sobre el presente y futuro de los fenómenos que relacionan las alteraciones del balance oxidativo de la piel con la exposición a rUV.

Palabras claves: Estrés oxidativo, Fotoprotección, Melanoma, Piel, Radiaciones ultravioletas.

INTRODUCCIÓN

Las reacciones de oxidación constituyen eventos inherentes a la vida, pues ellas están estrechamente relacionadas con la formación de compuestos de elevado valor energético, empleados normalmente como combustibles en los procesos metabólicos. Para mantener la homeostasis debe existir un equilibrio entre la producción y el consumo de los compuestos generados en las reacciones de oxidación; si esto no ocurre, se produce entonces un estado de estrés oxidativo (EO), que puede conllevar al desarrollo de variados fenómenos patológicos. Existen mecanismos de protección celular, cuyo propósito fundamental es evitar que se produzcan estados de EO; ellos se encuentran organizados a diferentes niveles que incluyen: prevención, intercepción, sustitución y reparación.

Los agentes antioxidantes como componente fundamental del sistema de protección, se encargan de mantener el equilibrio que debe existir en condiciones normales entre la producción y eliminación de especies reactivas del oxígeno y otros compuestos relacionados; alteraciones del mencionado equilibrio acarrea afectaciones a la célula, que pudieran, incluso, comprometer su supervivencia y la de otras relacionadas funcional o estructuralmente.

La luz del sol es parte de nuestra vida diaria y la mayoría de las personas la acepta como beneficiosa para la salud. Se han desarrollado vertiginosamente novedosas ramas como la Fotoquímica, la Fotobiología y la Fotomedicina, ciencias que adquieren cada vez mayor importancia en el esclarecimiento de las variadas influencias que ejercen las radiaciones solares sobre los seres vivos y, principalmente, sobre el Hombre. Las rUV contenidas en las emisiones solares se pueden dividir en rUV, tipo A (rUVA), tipo B (rUVB) y tipo C (rUVC).

La piel constituye la barrera fundamental de protección de los animales, por encontrarse en contacto permanente con el medio exterior. Entre los principales agentes causantes de afectaciones en los organismos vivos se encuentran los factores ambientales; de ellos, las emisiones luminosas solares tienen especial importancia en la actualidad, debido a nuestra mayor exposición a las rUV que contienen.. Por citar un ejemplo de la magnitud real del problema, investigaciones publicadas señalan que de 840 000 personas que padecen de cáncer de piel en los EE.UU., 9 400 mueren anualmente; y se estima que alrededor de 90 % de esta incidencia en afecciones de la piel (tanto del tipo no-melanótico como también del tipo melanótico), puede atribuirse a la exposición solar. ¹

DESARROLLO

En la actualidad existe un cúmulo de evidencias y resultados cada vez más mayores, que vincula la presencia de alteraciones del balance oxidativo producido por la exposición a rUV solares, como agente causal en la creciente incidencia (aproximadamente 6 % anual) de afecciones malignas de la piel. Estos antecedentes constituyen la base que justifica el desarrollo de un número de investigaciones que va en ascenso en los últimos años, en relación con el conocimiento de las alteraciones que provoca la exposición a rUV y así, también, en la búsqueda de vías para prevenir,

atenuar o eliminar las afecciones que se puedan producir o las ya producidas por esa causa.

La exposición de células de mamíferos a rUV induce la expresión de numerosos genes, razón por la cual se consideran como el principal iniciador y promotor de procesos malignos en la piel. Del espectro de rUV, emitidas por el sol, que alcanzan la superficie terrestre, son las rUVB (comprendidas entre los 280 a 320 nm) las consideradas como más dañinas, la rUVA (de 315 a 400 nm) de menor energía y las rUVC de mucha mayor energía que las de tipo B, pero que todavía en la actualidad, son absorbidas completamente por las capas superiores de la atmósfera terrestre. En este sentido, se ha demostrado experimentalmente que dosis subletales de rUVB provocan una fuerte inducción de c-fos y c-jun en queratinocitos humanos.² También se reporta que similares dosis de rUVB constituyen un potente inductor de la familia de mitógenos JNK/SPAK proteínas cinasas.³

No hay ninguna duda de que el sol representa en nuestros días el principal factor ambiental dañino para la piel del Hombre. Entre las alteraciones que induce la exposición a rUV se puede mencionar la dermatoheliosis, causada por la generación de Especies Reactivas del Oxígeno (ERO), tales como: oxígeno singlete (1O_2), anión superóxido (O_2^-) y radicales hidroxilos ($\cdot OH$) que dañan el ADN y las membranas celulares, y provocan carcinogénesis y cambios asociados al fotoenvejecimiento.⁴ Fuertes evidencias epidemiológicas relacionan la exposición a radiaciones solares con la aparición de melanomas cutáneos, existiendo una estrecha correlación entre determinados fenotipos (piel blanca, ojos verdes/azules y la presencia de pecas) y la aparición de melanomas por exposición a radiaciones solares. Las exposiciones Intermitentes y continuadas, y, sobre todo, las exposiciones en períodos tempranos de la vida (particularmente en la infancia), se relacionan con mayor riesgo en la aparición de melanomas.^{4,5,6}

Cada vez más se demuestra el efecto beneficioso de los protectores solares en la prevención de las afecciones de la piel producidas por las radiaciones solares.^{7,8} La incidencia de melanomas es más elevada en adultos expuestos que no se protegieron en la infancia, que aquellos que se exponen continuamente y que estuvieron protegidos a la exposición solar durante la infancia y la juventud.⁹

Teniendo en cuenta las evidencias que indican que las rUV provocan un considerable desbalance oxidativo en la piel, numerosos estudios profundizan en el conocimiento de las afectaciones que se producen por esta causa y prueban el efecto de compuestos con actividad antioxidante. Una sustancia de sumo interés es, sin dudas, el DL α -tocoferol, conocido como Vitamina E, compuesto extensamente empleado por su conocida capacidad para absorber la rUV, por su conocido efecto antioxidante y también porque luego de la exposición a rUV, sus niveles en piel disminuyen significativamente. Así, en varios estudios, tanto en animales como en humanos, se reporta que el empleo de α -tocoferol aplicado tópicamente reduce la formación de bases de Schiff en la piel de ratones expuestos a rUV, y aumenta el grosor de la epidermis, por lo que se detecta la paraqueratosis como causa del incremento en el grosor epidérmico.¹⁰ Además, se reporta que el empleo del agente antioxidante también redujo significativamente el número de células dañadas por las quemaduras que normalmente induce la exposición a la rUV.¹¹

Se reporta que la exposición de la piel del ratón a rUVB produce fotoafección de los ácidos nucleicos, mediante una acumulación de dímeros de pirimidina en el ADN.¹² La generación y acumulación de productos de este tipo por efectos de la exposición a rUV puede conducir a mutaciones en determinados genes y contribuir así al desarrollo de afecciones malignas en la piel. En relación con los efectos del α -tocoferol sobre las alteraciones moleculares antes mencionadas, se reporta que su uso induce una disminución en los niveles de dímeros de timina en el ADN. No obstante, entre los diferentes preparados empleados en el estudio: acetato de α -tocoferol, α -tocoferol metiléter, γ -tocoferol y δ -tocoferol, el efecto protector ante el fotodaño del ADN se mantiene, pero con una efectividad de 5 a 10 veces menor que cuando se emplea el α -tocoferol.¹³ Estos resultados sugieren que se debe actuar con extrema cautela al seleccionar la forma de los compuestos que se emplearán en la elaboración de agentes con acción fotoprotectora.

Otros estudios reportan el uso de preparados ricos en tocotrienol, obtenidos del aceite de la palma (CRT), como compuesto eficaz para mantener elevados los niveles de Vitamina E como agente antioxidante protector de la piel, luego de la exposición a rUV. Se demuestra que la aplicación de CRT protege la piel de la disminución en los niveles de las diferentes formas de Vitamina E que normalmente se produce por la exposición a rUV.¹⁴

Otro hecho ampliamente conocido que provoca la exposición a radiaciones solares es una marcada inmunosupresión; por esa razón, una de las líneas investigativas de mayor actualidad está destinada a la búsqueda de vías que permitan contrarrestar, además de las otras múltiples afecciones que inducen las rUV, las relacionadas con la modulación del sistema inmunológico. El efecto tanto local como sistémico inducido por la rUV se relaciona con la supresión de inmunidad tumoral, lo que propicia la generación y crecimiento de tumores altamente inmunogénicos y agresivos en la piel. Investigaciones realizadas usando trasplante de melanomas en ratones C3H como modelo de estudio, demuestran que el empleo de 4 tipos de protectores solares disponibles en el mercado, con factor de protección solar (FPS) entre 8 y 45, protegen a los animales de la inmunosupresión que induce la rUV, mediante un bloqueo de la activación de linfocitos T supresores, antígeno específico de tumores y reduce así el tamaño de los tumores implantados.¹⁵ Se señala también que los preparados estudiados que poseen FPS entre 30 y 45 fueron mucho más efectivos que los que tienen valores de FPS igual a 15 o superiores, aunque estos últimos también fueron efectivos en evitar procesos de inmunosupresión. Estos resultados se derivan de estudios realizados tanto en ratones, ratas¹⁶ y humanos.¹⁷

No existen dudas en relación con que quizás el compuesto más empleado en estudios de protección de la piel ante los efectos de la rUV es la Vitamina E, la cual se ha usado también para prevenir efectos relacionados con alteraciones de las rUV sobre el sistema inmune. La actividad protectora de la Vitamina E sobre la piel está directamente relacionada con la inhibición de la peroxidación lipídica epidérmica, vía por la cual el α -tocoferol pudiera prevenir la inmunosupresión, al menos la local, que induce la exposición a rUV.¹⁸

Se ha determinado que la exposición de queratinocitos y de células endoteliales humanas a rUVB provoca liberación de óxidos de nitrógeno como: óxido nítrico (ON),

S-nitrosotioles, hidroxilamina (H_2NOH), así como amonio, el cual es formado a partir de L-arginina. Con vistas a reducir estas alteraciones, se reporta que el empleo tanto de N-monometil-L-arginina (L-NMMA) como de N-nitro-L-arginina (L-NA) disminuye significativamente la formación de óxidos de nitrógeno.¹⁹

Se ha demostrado que la exposición de la piel a rUV, específicamente, la rUVA, constituye una fuente generadora de $^1\text{O}_2$, el cual reacciona fuertemente con el colágeno y la elastina, compuestos claves entre cuyas funciones está brindar elasticidad y suavidad a la piel. El proceso de acoplamiento fuerte del $^1\text{O}_2$ con el colágeno resulta inhibido por la presencia de NaN_3 ; en contraste, el empleo de superoxidodismutasa (SOD) y manitol no tiene ningún efecto sobre este evento, lo que lleva a concluir que el proceso de acoplamiento del colágeno al $^1\text{O}_2$ es causado por la formación que la rUV induce de este compuesto altamente reactivo. El hallazgo de que la semicarbazida inhibe el acoplamiento del colágeno al $^1\text{O}_2$, sugiere que la unión entre ellos se produce entre los residuos de histidil foto-oxidado y los grupos aminos. El profundo conocimiento de los procesos involucrados en el acoplamiento entre colágeno y $^1\text{O}_2$ tiene gran importancia para combatir las afecciones que genera en la piel su exposición a rUV y también para comprender mejor los fenómenos que inducen el fotoenvejecimiento.²⁰ Resultados de interés sobre el papel del $^1\text{O}_2$ y las rUV señalan que la exposición de fibroblastos humanos a rUVA provoca un aumento hasta 5 veces la inducción de actividad JNK, y se demuestra, además, que este fenómeno fue reforzado por la presencia de D_2O , un potenciador del tiempo de vida media del $^1\text{O}_2$.²¹

Un efecto recientemente reportado como consecuencia de la exposición de cultivos de piel humana a rUV, es el significativo aumento en la expresión de la proteína p53, la que está involucrada en fenómenos de retraso del crecimiento, en la reparación del ADN y en la inhibición de procesos de apoptosis. La presencia de compuestos que barren las Especies Reactivas del oxígeno (ERO), como es el caso de: N-acetil cisteína, ascorbato y α -tocoferol, inhiben el aumento de la proteína p53. Por otro lado, el aumento de las cadenas sencillas de ADN es también un factor que aumenta la expresión de la p53. En ese sentido, se ha demostrado que la rUV, específicamente, la rUVC, induce la presencia de compuestos como ara C e hidroxiurea que también aumentan la expresión de la p53. Sin embargo, éste no parece ser el mecanismo por el cual la radiación solar aumenta los niveles de p53. El aumento en los niveles de p53 detectados en fibroblastos humanos parece estar directamente relacionado con la generación de ERO producidas por los componentes de rUV que alcanzan la superficie terrestre, la rUVB y la rUVA.^{22, 23}

Existen resultados que señalan la disminución de compuestos claves con actividad antioxidante como causa principal de las afectaciones provocadas por la exposición a la rUV. Se ha demostrado que la rUVA produce disminución de los niveles de glutatión (GSH) intracelular. Como es ampliamente conocido, el GSH constituye uno de los principales compuestos barredores de radicales libres y es también un importante cofactor de enzimas protectoras como la glutatión-peroxidasa (GSHpox) dependiente de selenio. Se reporta que la presencia de tioles, principalmente el NAC y el citiolón, evita la disminución de los niveles de GSH cuando cultivos de fibroblastos humanos se exponen a rUVA. La adición de selenio en forma de selenito de sodio incrementa significativamente el efecto protector de NAC y de citiolón sobre la disminución de los niveles de GSH, que tiene lugar por la exposición de fibroblastos humanos a rUVA.²⁵

Otros estudios demuestran resultados similares en cuanto a la marcada afectación en los niveles de GSH por efectos de rUV, y se reporta disminución hasta 90% en los niveles de GSH en fibroblastos y queratinocitos humanos a las 24 h. de haber sido expuestos a rUVA (dosis de 1.0 mJ/m²).²⁵

Se reporta que el uso de ácido gálico y sus etil y propil ésteres protegen los fibroblastos humanos de la dermis, ante los efectos dañinos que induce el H₂O₂ generado por la exposición a rUVA. El citado estudio se realiza mediante la determinación de los niveles del ·OH por el método de RSE de atrapamiento orbital, y se demuestra que el ácido gálico y sus ésteres disminuyen significativamente los niveles del ·OH en la piel humana que induce la exposición a rUVA.²⁶

Resultados recientes parecen ser concluyentes en relación con la duda que existía sobre la causa que provoca oxidación del ascorbato de la piel, por el efecto de rUV. Se plantea que la rUV induce oxidación del ascorbato en la piel murina, resultados de reacciones de fotoactivación y no debido a la formación de ERO.²⁷

La búsqueda de compuestos con actividad protectora para la piel ante los daños producidos por las rUV, frecuentemente se orienta hacia la preparación de compuestos a partir de productos naturales. El empleo de extractos de *Thuja plicata* (llamado también beta-thujaplicin) inhibe el proceso de apoptosis que ocurre en los queratinocitos luego de su exposición a rUVB y también induce liberación de la proteína metalotioneína. Este compuesto también protege eficientemente la piel contra las quemaduras solares.²⁸

Entre las múltiples afecciones que induce la exposición a rUVB como agente causante de tumoraciones malignas en la piel se pueden señalar además de las conocidas quemaduras, otras afecciones de suma importancia como: edema, disminución de los niveles de actividad de la enzima catalasa (CAT), inducción de la actividad de las enzimas ciclo-oxigenasa (COX) y ornitina descarboxilasa (ODC), así como un aumento en los niveles de expresión del ARNm de la ODC.²⁹ Estudios realizados para evaluar el efecto de Silymarin, un flavonoide obtenido de cardos lechosos, sobre las afectaciones anteriormente mencionadas demuestran que la aplicación tópica del flavonoide en ratones SKH-1 desnudos (dosis 9 mg/aplicación) en experimentos a largo plazo, ejerce un potente efecto antitumoral, disminuyendo tanto la incidencia (de un 40 a un 20%), la multiplicidad (67%) como el volumen (66%) tumoral de animales expuestos a rUVB solamente, o combinada con la administración de agentes carcinogénicos como ésteres de forbol y 7,12 dimetilbenz(a)antraceno. Por otro lado, estudios a corto plazo ponen de manifiesto un potente efecto protector del Silymarin ante la exposición a rUVB, mediante la reducción significativa de la quemadura celular, de la apoptosis y el edema. La aplicación tópica de Silymarin también inhibe la depleción en los niveles de actividad CAT y la inducción de COX y de ODC, además disminuye la expresión del ARNm de la enzima ODC que induce la exposición de la piel murina a rUVB.³⁰

Se reporta que la aplicación de Silymarin ofrece una protección casi total de la piel murina (en ratones SENCAR), frente a la aplicación de agentes carcinogénicos como TPA y el ácido ocaídoico (AO). Los efectos específicos del Silymarin como protector ante la aplicación de estos agentes nocivos se resumen en su capacidad para proteger la incidencia y la multiplicidad tumoral en 85 y 94 % respectivamente.³¹ Como se sabe,

el TNF- α constituye un promotor tumoral endógeno y un mediador central en la promoción tumoral, por lo que resulta de sumo interés el reporte de que la aplicación tópica de Silymarin produce una significativa o completa inhibición de la expresión del ARNm de TNF- α ; se reporta así que el Silymarin constituye un potente agente quimio-protector antitumoral, mediante su efecto inhibitorio de promotores tumorales endógenos, como es el caso del TNF- α .³²

Entre los mecanismos de protección de la piel a las radiaciones solares se encuentran el oscurecimiento del biocromo melanina, lo cual se origina mediante su oxidación. El empleo de esteroides preparados a partir de extractos de piel humana y también de una mezcla de lípidos del estrato córneo, demuestra que los esteroides y, principalmente, el colesterol libre compite con la peroxidación de otros compuestos lipídicos de la piel, como ceramidas y ácidos grasos libres cuando se exponen a rUV.³³

La exposición solar unida al daño de la capa de ozono está provocando cada vez mayor afectación a la población mundial, lo que pudiera conducir en los próximos años a la explosión de una epidemia del más maligno de los cánceres de piel: el melanoma.³⁴ Sin embargo, es una realidad ampliamente aceptada que el cáncer de piel está entre las afecciones evitables, mediante la realización de campañas educativas a la población, orientadas a informar sobre los efectos dañinos que provoca la exposición a radiaciones solares, con vistas a erradicar hábitos nocivos de exposición desmedida y desprotegida al sol y mediante una lucha más efectiva para evitar la afectación que el Hombre está provocando a la capa de ozono.³⁵

Teniendo en cuenta estos elementos en numerosos países desarrollados (Alemania, EE.UU., Inglaterra, etcétera) se están realizando campañas que abarcan los medios de difusión masiva.^{36, 37} Se reporta también la realización de visitas a escuelas primarias, charlas con los maestros y padres, para sensibilizar cada vez más a la población sobre los efectos dañinos de las radiaciones solares y las formas de prevenirlos, principalmente evitando exposiciones desmedidas, mediante el empleo de protectores solares y de vestimenta apropiada.³⁸

CONCLUSIONES

Con este trabajo se hace evidente el creciente número de resultados que responsabilizan al EO como causa común en las alteraciones de la piel generadas por los efectos de la rUV, presentes en las radiaciones solares que alcanzan la superficie terrestre.

Se demuestra fehacientemente que la exposición de la piel a rUV incrementa los niveles de producción de radicales libres, de peroxidación lipídica, de generación de ERO, de reacciones de acoplamiento fuerte entre especies reactivas y constituyentes esenciales de la piel. Por otro lado, se demuestra una marcada disminución de los principales compuestos antioxidantes y detoxificantes, como GSH y enzimas relacionadas, Vitamina E, SOD, COX, CAT, etcétera. Este conjunto de alteraciones que pueden ser inducidas por la simple exposición de la piel a rUV, constituyen elementos que, sin dudas, pueden desencadenar cambios fatales a nivel celular y tisular, mediante la inducción de alteraciones a nivel genético y morfo-funcional en el organismo.

El desarrollo de tratamientos orientados a evitar alteraciones de tipo oxidativo va teniendo cada vez mayor auge, así como el uso de protectores solares más eficientes y el empleo de compuestos con propiedades antioxidantes y de barredores de especies de radicales libres.

De los resultados aquí expuestos, se deriva la necesidad de impulsar estudios destinados a conocer mejor las afectaciones provocadas por la exposición solar, con el objetivo de encontrar vías y medios de protección más eficientes. Entre nuestros propósitos, está transmitir un mensaje de alerta con alcance social, para la realización y puesta en marcha de un programa dirigido a la preservación y al mejoramiento de la calidad de vida de la población a nivel mundial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Everet, S.A., Colditz, G.A. Skin cancer prevention: a time for action, *J. Community Health*. 1997; 22(3): 175-83.
2. Countryman, N.B., Pei, Y., Yi, Q., Spandau, D.F., Travers, J.B. Evidence for involvement of the epidermal platelet-activating factor receptor in ultraviolet-B-radiation-induced interleukin-8 production. *J. Invest. Dermatol.* 2000; 115(2): 267-72.
3. Assefa, Z., Garmyn, M., Boullion, R. y col. Differential stimulation of ERK and JNK activities by UVB irradiation and epidermal growth factor in human keratinocytes, *J. Invest. Dermatol.* 1997; 108(6): 886-91.
4. Tedesco, A.C., Martínez, L., González, S. Photochemistry and photobiology of actinic erythema: defensive and reparative cutaneous mechanisms, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1997; 30(5): 561-75.
5. Langley, R.G, Sober, A.J. A clinical review of the evidence for the role of ultraviolet radiation in the etiology of cutaneous melanoma, *Cancer-Invest.* 1997; 15(6): 561-67.
6. Xu, G., Snellman, E., Bykov, V.J., Jansen, C.T., Hemminki, K. Cutaneous melanoma patients have normal repair kinetics of ultraviolet-induced DNA repair in skin in situ, *J. Invest. Dermatol.* 2000; 114(4): 628-31.
7. Naylor, M. F., Farmer, K.C. The case of sunscreens. A review of their use in preventing actinic damage and neoplasia, *Arch. Dermatol.* 1997;133(9): 1146-54.
8. Van der Molen, R.G., Out-Luiting, C., Driller, H., Claas, F.H., Koerten, H.K., Mommaas, A.M. Broad-spectrum sunscreens offer protection against urocanic acid photoisomerization by artificial ultraviolet radiation in human skin. *J. Invest. Dermatol.* 2000; 115(3): 421-6.
9. Autier, P., Dore, J. F., Gefeller, O. y col. Melanoma risk and residence in sunny areas. EORTC Melanoma Cooperative Group. European organization for Research and Treatment of Cancer. *Br-J-Cancer.* 1997; 76(11):1521-4.

10. Ritter, E.F., Axelrod M., Minn, K.W. y col., Modulation of ultraviolet light-induced epidermal damage: beneficial effects of tocopherol, *Plast. Reconstr. Surg.* 1997;100(4): 973-80.
11. Meyskens, F.L., Chau, H.V., Tohidian, N., Buckmeier, J. Luminol-enhanced chemiluminiscent response of human melanocytes and melanoma cells to hydrogen peroxide stress, *Pigment. Cell Res.* 1997;10(3): 184-9.
12. Young, A.R., Sheehan, J. M., Chadwick, C.A., Potten, C.S. Protection by ultraviolet A and B sunscreens against in situ dipyrimidine photolesions in human epidermis is comparable to protection against sunburn, *J. Invest. Dermatol.* 2000; 115(1): 37-41.
13. McVean, M., Liebler, D.C. Inhibition of UVB induced photodamage in mouse epidermis by topically applied alpha-tocopherol, *Carcinogenesis.*1997; 18(8): 1617-22.
14. Weber, C., Podda, M., Rallis, M. y col. Efficacy of topically applied tocopherols and tocotrienols in protection of murine skin form oxidative damage induced by UV-irradiation, *Free-Radic-Biol-Med.* 1997; 22(5): 761-9.
15. De Gruijl, F.R. Photocarcinogenesis: UVA vs UVB, *Methods Enzymol.* 2000; 319: 359-66.
16. Roberts, L.K., Beasley, D.G. Sunscreen prevents local and systemic immunosuppression of contact hypersensitivity in mice exposed to solar-simulated ultraviolet radiation, *J-Photochem-Photobiol-B.* 1997; 39(2): 121-9.
17. Serre, I., Cano, J. P., Picot, M.C., Meynadier, J., Meunier, L. Immunosuppression induced by acute solar-simulated ultraviolet exposure in humans: prevention by a sunscreen with a sun protection factor of 15 and high UVA protection, *J. Am. Acad. Dermatol.* 1997; 37(2 Pt 1): 187-94.
18. Yuen, K.S., Halliday, G.M. Alpha tocopherol, an inhibitor of epidermal lipid peroxidation, prevents ultraviolet radiation from suppressing the skin immune system, *Photochem. Photobiol.* 1997; 65(3): 587-92.
19. Deliconstantinos, G., Villiotou, V., Stravrides, J.C. Inhibition of ultraviolet B-induced skin erythema by N-nitro-L-arginine and N-monomethyl-L-arginine, *J. Dermatol. Sci.* 1997; 15(1): 23-35.
20. Ryu, A., Naru, E., Arakane, K. y col. Cross-linking of collagen by singlet oxygen generated with UV-A, *Chem. Pharm. Bull.* 1997; 45(8): 1243-7.
21. Klotz, L.O., Briviba, K., Sies, H. Singlet oxygen mediates the activation of JNK by UVA radiation in human skin fibroblasts. *FEBS. Lett.* 1997; 408(3): 289-91.
22. Wamer, W.G., Wei, R.R. *In vivo* photo-oxidation of nucleic acid by ultraviolet. A radiation. *Photochem. Photobiol.* 1997; 65(3): 560-3.

23. Chikayama, S., Sugano, T., Takahashi, Y., Ikeda, M., Kimura, S., Kobayashi, Y., Kondo, M. Nuclear accumulation of p53 protein and apoptosis induced by various anticancer agents, u.v.-irradiation and heat shock in primary normal human skin fibroblasts, *Int. J. Oncol.* 2000; 16(6):117-24.
24. Niggli, H.J., Applegate, L.A. Glutathione response after UVA irradiation in mitotic and postmitotic human skin fibroblasts and keratinocytes, *Photochem. Photobiol.* 1997; 65(4): 680-4.
25. Benathan, M. Opposite regulation of tyrosinase and glutathione peroxidases by intracellular thiols in human melanoma cells, *Arch. Dermatol. Res.* 1997; 289(6): 341-6.
26. Kitazawa, M., Podda, M., Thiele, J. y col. Interactions between Vitamin E homologues and ascorbate free radicals in murine skin homogenates irradiated with ultraviolet light, *Photochem. Photobiol.* 1997; 65(2): 355-65.
27. Bangha, E., Elsner, P., Kistler, G.S. Suppression of UV-induced erythema by topical treatment with melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine). Influence of the application time point, *Dermatology.* 1997; 195(3): 248-52.
28. Baba, T., Nakano, H., Tamai, K. y col. Inhibitory effect of beta-thujaplicin on ultraviolet B-induced apoptosis in mouse keratinocytes, *J. Invest. Dermatol.* 1998; 110(1): 24-8.
29. Stratton, S.P., Dorr, R.T., Alberts, D.S. The state-of-the-art in chemoprevention of skin cancer. *Eur. J. Cancer.* 2000; 36(10): 1292-7.
30. Katiyar, S.K., Korman, N.J., Mukhtar, H., Agarwal, R. Protective effects of Silymarin against photocarcinogenesis in a mouse skin model, *J. Natl. Cancer Inst.* 1997; 89(8): 556-66.
31. Zi, X., Mukhtar, H., Agarwal, R. Novel cancer chemoprotective effects of a flavonoid antioxidant silymarin: inhibition of mRNA expression of an endogenous tumor promoter TNF alpha, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997; 239(1): 334-9.
32. Lasch, J., Schonfelder, U., Walke, M. y col. Oxidative damage of human skin lipids. Dependence of lipid peroxidation on sterol concentration, *Biochem. Biophys. Acta.* 1997 nov.15; 1349(2): 171-81.
33. McPhail, G. There's no such thing as a healthy glow: cutaneous malignant melanoma the case against suntanning, *Eur. J. Cancer Care Engl.* 1997; 6(2): 147-53.
34. Kolmel, K.F., Pfhalberg, A., Gefeller, O. Prevention of melanoma by sun protective measures in childhood. Temporal changes in awareness of parents, *Hautarzt.* 1997; 48(6): 391-6.
35. Mayer, J.A., Slymen, D.J., Eckhard, L. y col. Reducing ultraviolet radiation exposure in children, *Prev. Med.* 1997; 26(4): 516-2.

36. Davis, S., Capjack, L., Kerr, N., Fedosejevs R. Clothing as protection from ultraviolet radiation: which fabric is most effective?, *Int. J. Dermatol.* 1997; 36(5): 374-9.
37. Koh, H.K., Bak, S.M., Geller, A.C. y col. Sunbathing habits ad sunscreen use among white adults: results of a national survey, *Am. J. Public. Health.* 1997; 87(7): 1214-7.
38. Robinson, J.K., Rigel, D.S., Amonette, R.A. Trends in sun exposure acknowledge, attitude, and behaviors: 1986 to 1996. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1997; 37(2 Pt 1): 179-86.