



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
SECCIÓN DE POSGRADO

**EFFECTO FOTOPROTECTOR DEL POLYPODIUM LEUCOTOMOS
EN TRABAJADORES CON ALTO RIESGO DE
SOBREEXPOSICIÓN SOLAR**

**PRESENTADA POR
ALEJANDRO MEDRANO BARRERA**

**TESIS PARA OPTAR GRADO DE MAESTRO EN MEDICINA CON
MENCIÓN EN FARMACOLOGÍA**

LIMA – PERÚ

2016



**Reconocimiento
CC BY**

El autor permite a otros distribuir, mezclar, ajustar y construir a partir de esta obra, incluso con fines comerciales, siempre que sea reconocida la autoría de la creación original.

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



USMP
UNIVERSIDAD DE
SAN MARTÍN DE PORRES

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
SECCIÓN DE POSGRADO

**EFFECTO FOTOPROTECTOR DEL *POLYPODIUM*
LEUCOTOMOS EN TRABAJADORES CON ALTO RIESGO DE
SOBREEXPOSICIÓN SOLAR**

TESIS

**PARA OPTAR GRADO DE MAESTRO EN MEDICINA CON MENCIÓN EN
FARMACOLOGÍA**

**PRESENTADA POR
ALEJANDRO MEDRANO BARRERA**

LIMA –PERÚ

2016

**EFFECTO FOTOPROTECTOR DEL POLYPODIUM
LEUCOTOMOS EN TRABAJADORES CON ALTO RIESGO DE
SOBREEXPOSICIÓN SOLAR**



ASESOR

Dr. CLYFF PHILAE ALFARO LUDEÑA

Magister en Bioquímica y Nutrición

Médico Dermatólogo

Universidad San Martín de Porres.





DEDICATORIA

A mi familia por ser el pilar en mi formación personal y profesional, brindándome su constante ejemplo, estímulo y motivación.



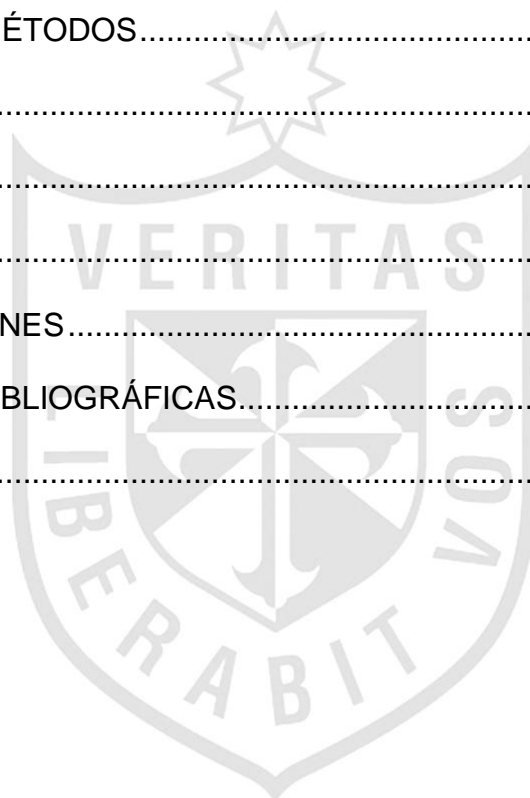
AGRADECIMIENTOS

Al Director del Hospital de la Solidaridad de Chiclayo, por su invaluable apoyo.

A los participantes en el presente trabajo de investigación por su colaboración desinteresada.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
MARCO TEÓRICO	8
MATERIALES Y MÉTODOS	18
RESULTADOS	24
DISCUSIÓN	32
CONCLUSIONES	36
RECOMENDACIONES	37
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
ANEXOS	45



ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1	24
Tabla 2	26
Tabla 3	27
Tabla 4	29
Tabla 5	29
Tabla 6	31
Tabla 7	45
Tabla 8	47

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 1	25
Gráfico 2	25
Gráfico 3	28
Gráfico 4	28
Gráfico 5	30

RESUMEN

Objetivo: Determinar cuál es el efecto atribuible al *Polypodium leucotomos* como agente fotoprotector en trabajadores con alto riesgo de sobreexposición solar.

Método: Siguiendo un diseño de tipo observacional, descriptivo, de serie de casos de cohorte única se analizaron un total de 47 casos de trabajadores del Hospital de la Solidaridad de Chiclayo con el objeto de medir el efecto del extracto de *Polypodium leucotomos* a dosis estándar (dosis de 7.5 mg/kg/d vía oral, fraccionada en tomas cada 8 horas por 72 horas) así como su correlación con la intensidad de exposición a la luz solar en condiciones normales de trabajo, intensidad que fue cuantificada con el índice de radiación UV (IRUV) a intervalos de dos horas.

Resultados: El promedio de edad de los participantes fue de 35.7 ± 5.4 años de edad, siendo la mayoría (81%) mujeres, profesionales de la salud (49%), de fototipo III (62%), piel cobriza (68%), ojos marrones oscuros (58%) y/o cabello de color castaño oscuro o negro (49%). Las dosis totales administradas a los participantes fueron de 720 mg (23%), 960 mg (62%) y 1200 mg (15%) y el índice de radiación ultravioleta promedio al que estuvieron expuestos al medio día fue en promedio de 11.72 ± 1.52 . La DEM pre y post tratamiento fue de $1.42 \pm 0.33 \text{ J/cm}^2$ (intervalo de confianza al 95% [IC 95%]: 1.33 – 1.51 J/cm^2) y $1.97 \pm 0.40 \text{ J/cm}^2$ (IC 95%: 1.86 – 2.09 J/cm^2), mientras que la diferencia de la DEM pre y post tratamiento promedio fue de $0.55 \pm 0.20 \text{ J/cm}^2$ (IC 95%: 0.49 – 0.61 J/cm^2). Según estos resultados el efecto atribuible al *Polypodium leucotomos* como agente fotoprotector, en términos de DEM, fue de $40.8 \pm 15.9\%$ (IC 95%: 36.2 – 45.5%). Al análisis estadístico se encontró que esta diferencia era significativamente diferente de cero ($p < 0.001$), pero

al análisis de regresión se encontró que la magnitud de esta diferencia variaba significativamente en función del Índice de Radiación Ultravioleta ($\beta_1 = 0.23$; IC95%, 0.14 – 0.31, $p < 0.001$) y el fototipo (β_2 (fototipo III vs. II) = 0.15; IC95%, 0.02 – 0.28, $p = 0.028$; β_3 (fototipo IV vs. II) = 0.22; IC95%, 0.07 – 0.37, $p = 0.005$; β_4 (fototipo V vs. II) = 0.36; IC95%, 0.16 – 0.56, $p = 0.001$) de los participantes ($R^2 = 0.62$).

Conclusiones: El personal que labora en el Hospital de la Solidaridad de Chiclayo si bien se encuentra expuesto a altas intensidades de radiación ultravioleta, pudo efectivamente incrementar su dosis eritematosa mínima cuando fue tratado con una dosis estándar de extracto de *Polypodium leucotomos* como agente fotoprotector; y mientras más alta la intensidad de radiación y más oscuro su fototipo más efectivo el tratamiento.

Palabras clave: Radiación ultravioleta, dosis eritematosa mínima, fototipo, *Polypodium leucotomos*.

ABSTRACT

Objective: Determine the effectiveness attributable to *Polypodium leucotomos* as photoprotective agent in workers at high risk of sunlight overexposure.

Method: Following a design of an observational descriptive with a case series of unique cohort a total of 47 workers from Chiclayo's Hospital de la Solidaridad were analyzed to measure the effect of a *Polypodium leucotomos* extract treatment with a standard dose (7.5 mg/kg/d orally, divided in doses every 8 hours for 72 hours) and its correlation with the intensity of sunlight exposure under normal working conditions, intensity that was measured in terms of ultraviolet index rate (UVIR) every two hours.

Results: The mean age of participants was 35.7 ± 5.4 years old, been the majority of them females (81%), health professionals (49%), of phototype III (62%), burnet skin (68%), dark brown eyes (58%), and/or dark brown or black hair (49%). The total dose administered to the participants were 720 mg (23%), 960 mg (62%), or 1200 mg (15%), and the average rate of ultraviolet radiation to which they were exposed at noon averaged 11.7 ± 1.5 . The MED before and after treatment was 1.42 ± 0.33 J/cm² (confidence interval 95% [95% CI]: 1.33 - 1.51 J/cm²) and 1.97 ± 0.40 J/cm² (95% CI: 1.86 - 2.09 J/cm²), respectively, while the difference in average MED pre and post treatment was 0.56 ± 0.19 J/cm² (95% CI 0.50 to 0.62 J/cm²). According to these results the effectiveness attributable to *Polypodium leucotomos* extract as a photoprotective agent, in terms of MED reduction, was of $40.8 \pm 15.9\%$ (95% CI: 36.2 - 45.5%). Statistical analysis showed that this difference was significantly different from zero ($p < 0.001$), but regression analysis found that the magnitude of this difference varied significantly depending on the Ultra Violet Radiation Index ($\beta_1 =$

0.23, 95% CI 0.14 - 0.31, $p < 0.001$) and phototype (β_2 (fototipo III vs. II) = 0.15; IC95%, 0.02 – 0.28, $p = 0.028$; β_3 (fototipo IV vs. II) = 0.22; IC95%, 0.07 – 0.37, $p = 0.005$; β_4 (fototipo V vs. II) = 0.36; IC95%, 0.16 – 0.56, $p = 0.001$) of the study subjects ($R^2 = 0.61$).

Conclusions: The personnel working in the Hospital de la Solidaridad of Chiclayo although they were exposed to high intensities of ultraviolet radiation their minimal erythema dose was reduced significantly when treated with a standard dose of *Polypodium leucotomos* extract as photoprotective agent; and the higher the radiation intensity and darker your skin type most effective the treatment.

Keywords: Ultraviolet radiation, minimal erythema dose, phototype, *Polypodium leucotomos*.



INTRODUCCIÓN

El riesgo ocupacional por la sobreexposición a la radiación ultravioleta y su asociación con las diferentes enfermedades de la piel, incluido el cáncer de piel, representa una preocupación creciente en los últimos años.¹ Debido a ello cada vez son más los estudios realizados en este campo así como mayor es la cantidad de productos fotoprotectores que salen a la venta al mercado. Idealmente, un producto fotoprotector debe proteger a las personas contra el desarrollo de quemaduras graves, hiperpigmentación, fotoalergia, fototoxicidad, cáncer de piel y cualquier tipo de injuria crónica de la piel, incluido el envejecimiento prematuro.² Sin embargo pocos son los productos licenciados con un efecto probado contra todos estos males.

Gracias al creciente desarrollo científico en este campo ahora sabemos que todo organismo vivo cuando se encuentra expuesto a la radiación ultravioleta (UV) reacciona en forma diferente. Algunos activan una serie de mecanismos que los induce a evitar la fuente de radiación UV (fenómeno conocido como fototaxis), otros buscan protegerse bajo materiales inertes, mientras que otros, los más desarrollados, tienen la capacidad de producir compuestos fotoprotectores que detectan específicamente la radiación UV, tales como la escitonemina en el caso de las cianobacterias, los flavonoides en el caso de las plantas y la melanina en el caso de los seres humanos y algunos animales.³ De esta manera, el mismo agente que puede inducir un daño superficial severo también puede inducir la producción de metabolitos fotoprotectores.

Entre los muchos compuestos propuestos como alternativas para minimizar el fotoenvejecimiento y prevenir las quemaduras solares agudas quizás una de los más prometedores es el extracto de *Polypodium leucotomos*.^{4, 5} Investigado principalmente por sus propiedades inmunomoduladoras y antiinflamatorias⁶ este producto natural ha sido evaluado ya sea como terapia primaria o como terapia coadyuvante en el manejo de patologías tan disímiles como infecciones virales y bacterianas⁷, fasciolosis hepática⁸, hiperpigmentación⁹ y otros desórdenes de pigmentación¹⁰, lupus eritematoso sistémico¹¹, psoriasis¹², vitíligo¹³, melanomas^{14, 15} y otros tumores de piel¹⁶, así como en otras enfermedades dermatológicas.^{17, 18} Adicionalmente y debido a su capacidad de inhibir la formación de especies reactivas del oxígeno inducidas por la luz UV y por sus propiedades antiinflamatorias este compuesto ha sido propuesto como un eficaz compuesto fotoprotector.^{19, 20} Desde el punto de vista de seguridad, el consumo de extracto de *Polypodium leucotomos* por la vía oral no ha sido asociado a efectos adversos severos aún.¹⁰ Aunque es importante aclarar que no se cuentan aún con estudios que hayan investigado estos efectos adversos a largo plazo, la evidencia disponible parece ser muy consistente a este respecto al menos al corto plazo. Dicho esto tampoco se cuenta con información disponible respecto de su seguridad en el caso de las mujeres embarazadas o en periodo de lactancia por lo que su uso en estas pacientes no se encuentra recomendado.

En el presente estudio se analizó el efecto atribuible al uso del extracto de *Polypodium leucotomos* en su forma comercial tal como ha sido introducida en nuestro país. Para ello se evaluó este producto en un grupo de trabajadores de un hospital de campaña, en una de las ciudades con mayor índice de radiación ultravioleta del Perú como lo es Chiclayo, entendiendo que existe una creciente preocupación por las consecuencias de la exposición laboral a altos índices de radiación ultravioleta.¹ De esta manera reportamos la experiencia acumulada con el uso del extracto de *Polypodium leucotomos* en condiciones reales y en función a esta evaluación realizamos las recomendaciones pertinentes.



MARCO TEÓRICO

Antecedentes de la investigación

La radiación ultravioleta puede ser la causa o el disparador de un daño tanto agudo como crónico de la piel. Para protegerse de esta es importante tanto disminuir el grado de exposición como minimizar el daño cuando este ya ha ocurrido. Debido a ello y principalmente a lo difícil que es controlar el comportamiento humano, los investigadores se han concentrado en identificar nuevos y mejores agentes fotoprotectores. Tal es el caso del extracto de *Polypodium leucotomos*.

Evidencia reciente da cuenta que el extracto de *Polypodium leucotomos* parecer ser eficaz tanto en la prevención, como en el tratamiento de quemaduras solares. Según Aguilera *et al*, el uso de una dosis total de 1080 mg de extracto de *Polypodium leucotomos* (240 mg/8h/d más una dosis única de 360mg a las 27 horas) protege a los individuos (n=61) contra el riesgo de quemaduras solares al incrementar significativamente la dosis eritematosa mínima (DEM) de los mismos (0.123 a 0.161 J/cm², $p < 0.05$). Más aun aparentemente este incremento es mayor en aquellos con historia familiar de melanoma, pacientes con ojos de color oscuro y en aquellos con una DEM preexposición bajo.¹⁵

En forma similar la administración oral de extracto de *Polypodium leucotomos* parece ser útil en el manejo de pacientes con erupción polimorfa lumínica, que es entre las fotodermatosis idiopáticas la más común. Según Tanew *et al*, el uso de

este producto natural puede prevenir o retrasar la manifestación de las lesiones típicas de la erupción polimorfa lumínica. En su estudio, estos investigadores analizaron un total de 35 casos de erupción polimorfa lumínica, expuestos a tratamiento oral con el extracto de *Polypodium leucotomos* a dosis diarias de entre 720 y 1200 mg día según peso corporal por 14 días. Postratamiento estos investigadores encontraron que los pacientes requerían un mayor número de radiación UVA (1,95 a 2,62; $p = 0,005$) y UVB (2,38 a 2,92; $p = 0,047$) para manifestar las lesiones típicas de la enfermedad, llegando a la insensibilidad en el 28 y el 30% de los casos, respectivamente.⁴

En un pequeño estudio (n =9) Middelkamp *et al*, dieron cuenta de que la administración oral del extracto de *Polypodium leucotomos* (7,5 mg/kg/d), disminuye significativamente la severidad del eritema 24 horas post tratamiento ($p <0,01$). Así mismo, histológicamente las muestras de biopsia demostraron una menor cantidad de células con signos de quemaduras ($p <0,05$), menos dímeros de pirimidina ciclobutano ($p <0,01$), menor proliferación de células epidérmicas ($p <0,001$), una menor infiltración de mastocitos dérmicos ($p <0,05$), y cierta tendencia hacia la preservación de células de Langerhans. En función de estos resultados, estos autores concluyeron que la administración oral del extracto de *Polypodium leucotomos*, es un efectivo agente quimoprotector sistémico que ofrece una protección significativa de la piel contra la radiación UV.²¹ Más adelante, en un estudio muy similar (n =10), estos mismos investigadores demostrarían que la administración oral de extracto de *Polypodium leucotomos* permite disminuir la

fototoxicidad secundaria al tratamiento con psoralenos-UVA (PUVA). Más aun histológicamente, la piel tratada con extracto de *Polypodium leucotomos* mostró una reducción significativa del número de células con signos de quemadura ($p = 0,05$), preservación de las células de Langerhans ($p < 0,01$), disminución de la infiltración de mastocitos triptasa-positivo ($p < 0,05$), y disminución de vasodilatación ($p < 0,01$).²²

Gonzales *et al*, a su tiempo, realizaron un estudio en el que evaluaron la utilidad del extracto de *Polypodium leucotomos* como agente fotoprotector en 21 voluntarios sanos sometidos a PUVA. En su estudio, estos investigadores encontraron que el uso de este producto tanto en forma oral como en forma tópica, incrementaba la dosis de radiación UV necesaria para conseguir un incremento significativo de los siguientes parámetros clínicos: dosis de oscurecimiento inmediato de pigmento (incremento de $2,8 \pm 0,59$ veces, $p < 0,01$), dosis eritematosa mínima (incremento de $2,75 \pm 0,5$ veces, $p < 0,01$) y dosis fototóxica mínima (incremento de $6,8 \pm 1,3$ veces, $p < 0,01$). Así mismo reportaron que el estudio inmunohistoquímico de las muestras de biopsia reveló fotoprotección de las células de Langerhans. A la luz de sus resultados estos investigadores concluyeron que el extracto de *Polypodium leucotomos*, puede ser utilizado como un tratamiento coadyuvante en los casos en los que se requiera de fototerapia con PUVA, disminuyendo significativamente el riesgo de fototoxicidad.²³

Como podemos apreciar, a pesar de la relativa abundancia de evidencia a favor del efecto fotoprotector atribuible al extracto de *Polypodium leucotomos*, el

número de casos utilizados para generar esta evidencia es relativamente pequeño, y en ninguno de estos casos estudios con más de 50 casos. Esto podría ser considerado como un criterio suficiente para poner en duda toda esta evidencia y ser motivo suficiente para recomendar una evaluación más rigurosa de la efectividad de este producto como agente fotoprotector, previo a su comercialización.

Bases teóricas

La exposición excesiva a radiación UV solar o artificial, es en extremo perjudicial para la piel. Como tal, esta sobre exposición a la radiación UV puede llegar a jugar un rol crucial en el desarrollo de cáncer de piel, causar alteraciones en la respuesta inmune, y actuar como un disparador o factor agravante para enfermedades de pigmentación.

En el caso de las reacciones agudas de la piel humana a la radiación solar UV (290-400 nm), una serie de factores inmunológicos e inflamatorios resultan ser activados ante el caso de una sobre exposición. Entre los diferentes mecanismos se incluyen: (1) la acción directa de los fotones en el ADN; (2) la generación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno que implican la formación de radicales de oxígeno singlete, de peróxido de hidrógeno, así como de radicales superóxido; (3) generación de prostaglandinas (PGD_2 , PGE_2 , etc.), histamina, leucotrienos y otros mediadores de la inflamación.²⁴ De ahí, que esta reacción fisiológicamente inducida por la radiación UV, representa el estrés oxidativo mediado por la formación de radicales libres, especies reactivas de oxígeno, peroxidación de

lípidos, liberación de los fosfolípidos de membrana, y posteriormente por la formación de prostaglandinas por la vía de la ciclo-oxigenasa.

Una protección eficaz contra los efectos nocivos de la radiación ultravioleta, requiere la práctica regular de estrategias fotoprotectoras, que incluyen la búsqueda de sombra, el uso de prendas de vestir adecuadas, sombreros de ala ancha, gafas de sol, y la aplicación de filtros o protectores solares.²⁵ Sin embargo, el uso y la práctica de estas medidas preventivas en forma óptima por parte de las personas en riesgo, han probado ser un gran reto de salud pública por decir lo menos. De ahí que los investigadores se han lanzado a la búsqueda de alguna medida de protección sistémica que permita disminuir las consecuencias nocivas de la sobre exposición a la radiación UV, sobre todo en la población de alto riesgo.²⁶ Precisamente es aquí de donde surge el interés en el extracto de *Polypodium leucotomos*, un producto natural con propiedades inmunomoduladoras y antiinflamatorias, que se correlacionan muy bien con los mecanismos patológicos de las lesiones causadas por la radiación UV.

Como producto natural el *Polypodium leucotomos* (del griego *poly* que significa “mucho” y *podia* que significa “pies pequeños”, debido a la apariencia de los rizomas y branquias muy similar a las de los pies de un niño) debe su descubrimiento a las comunidades indígenas de Centro y Sudamérica (700-2500 metros sobre el nivel del mar) que utilizaban esta planta como un antiinflamatorio natural. Desde el punto de vista farmacológico el extracto de esta planta es rico en monosacáridos (principalmente fructosa y glucosa), ácidos málico, glucorónico,

quínicos y shikímicos, así como una gran proporción de fenólicos. La mayoría de estos fenólicos pertenece a la familia de los benzoatos y cinamatos. Estos compuestos catecólicos no flavonoides tienen reconocidas propiedades antiinflamatorias, antimutagénicas y antineoplásicas.²⁷ Así mismo, debido a su relativa alta concentración de ácidos caféico y ferúlico este compuesto posee un poderoso efecto antioxidante, inhibiendo efectivamente la peroxidación mediada por radiación UV así como la propagación de la reacción en cadena inducida por esta peroxidación.²⁸ Adicionalmente, el ácido ferúlico es un poderoso amortiguador de fotones, debido a ello es común encontrar estos dos ácidos en la composición de diferentes lociones para la piel y bloqueadores solares.²⁹

De acuerdo a la literatura, el uso vía oral o tópico del extracto de *Polypodium leucotomos*, ha sido asociado con una importante actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora, produciendo diferentes efectos en la inmunidad celular tanto natural como específica. El efecto estimulante causado in vivo o in vitro por el extracto de *Polypodium leucotomos* en las células del sistema inmunológico (linfocitos T y las células asesinas naturales) y sus efectos sobre diversas citoquinas, le otorgan una capacidad inmunomoduladora y antiinflamatoria relativamente estable. Debido a ellos, este extracto ha sido reportado como un tratamiento coadyuvante relativamente efectivo en la mejora clínica de pacientes con una diversidad de patologías agudas y crónicas, incluida la prevención de infecciones virales y bacterianas⁷, fasciolosis hepática⁸, hiperpigmentación⁹ y otros desórdenes de pigmentación¹⁰, lupus eritematoso sistémico¹¹, psoriasis¹², vitíligo¹³,

melanomas^{14, 15} y otros tumores de piel¹⁶, así como en otras enfermedades dermatológicas.^{17, 18} Debido a su alto perfil de seguridad tanto solo, como cuando se le utiliza en combinación con otros medicamentos, este compuesto ofrece una alternativa relativamente segura para la prevención del efecto nocivo de la radiación UV en el público general.

Diversos estudios in vitro dan cuenta de que en humanos el extracto de *Polypodium leucotomos*, estimula la proliferación de células mononucleares en sangre periférica y estimula la producción de interleucina-2 (IL-2) y la secreción de interferón gamma. Así mismo se ha visto que mejora el efecto estimulante de otros agentes mitógenos sobre citoquinas tales como la IL-10.³⁰ Por otra parte, este extracto es capaz de reducir significativamente y retrasar la secreción de IL-1 beta de la misma manera que tiende a reducir los niveles de factor de necrosis tumoral alfa. Sin embargo, muchas de estas correlaciones parecen indicar que de hecho el extracto de *Polypodium leucotomos* en realidad produce un efecto contrario e independiente a cada una de estas citoquinas. Mientras que por un lado estimula la proliferación de la célula mononuclear de sangre periférica PBMNC y retrasa la secreción de IL-1 beta, al mismo tiempo, estimula el incremento en la secreción de IL-2, IL-10 e INF-gamma.³¹ De esta manera toda esta evidencia parece soportar la hipótesis de que el extracto de *Polypodium leucotomos* para diferentes citoquinas, posee un efecto pleiotrópico actuando en formas diferentes, en áreas diferentes de nuestro sistema inmune.

De la misma manera, diversos estudios tanto in vivo como in vitro, coinciden en reportar que el extracto de *Polypodium leucotomos* contribuye a incrementar el porcentaje de células con expresión del antígeno de membrana, el cual es característico de los linfocitos T y las células asesinas naturales, así como ciertos marcadores de activación (CD69, CD25).³² Por otro lado a las 24-48 horas el extracto de *Polypodium leucotomos* produce una disminución significativa en la expresión de las cadenas alfa (CD11a y CD11b) y beta (CD18) de las integrinas β 2 (moléculas de adhesión) tanto en monocitos como en linfocitos.³³ Este efecto modulador de la expresión de moléculas de adhesión, es la razón por la cual básicamente se ha propuesto al extracto del *Polypodium leucotomos* como un tratamiento coadyuvante en el manejo de enfermedades infecciosas, inflamatorias y/o autoinmunes. De esta manera el mecanismo fotoprotector del extracto de *Polypodium leucotomos* básicamente puede resumirse como un efecto antioxidante y un efecto inhibidor de la reacción fototóxica secundaria a la sobre exposición a la radiación UV.³⁴

Desde el punto de vista de seguridad, el consumo de extractos *Polypodium leucotomos* por la vía oral no ha sido asociado a efectos adversos severos aún.¹⁰ Aunque es importante aclarar que no se cuentan aún con estudios que hayan investigado estos efectos adversos al largo plazo, la evidencia disponible parece ser muy consistente a este respecto al menos al corto plazo. Dicho esto tampoco se cuenta con información disponible respecto de su seguridad en el caso se las

mujeres embarazadas o en periodo de lactancia por lo que su uso en estas pacientes no se encuentra recomendado.

Definiciones conceptuales

- Dosis de extracto de *Polypodium leucotomos*.- Considerando la variabilidad según rangos de peso y según adherencia de los participantes al tratamiento la dosis a analizar será las dosis 7.5 mg/kg/d promedio.
- Variación de la dosis eritematosa mínima.- Definida como la diferencial pre y post tratamiento de dosis eritematosa mínima o cantidad de radiación ultravioleta B que se necesita para producir una reacción eritematosa medida, la misma que será cuantificada en J/cm² utilizando el *Durham Erythema Test Device*.³⁵
- Fototipo.- Definido según la clasificación de Fitzpatrick modificada por Liu et al³⁶, el investigador clasifica los fototipos sólo en función a los antecedentes de quemaduras y bronceado solar: fototipo I, piel que siempre se quema y nunca se broncea; fototipo II, piel que siempre se quema, pero se broncea mínimamente y con dificultad; fototipo III, piel que se quema mínimamente y que se broncea de manera gradual y con dificultad; fototipo IV, piel que se quema mínimamente y siempre se broncea bien; fototipo V, piel que rara vez se quema y que se broncea instantáneamente; fototipo VI, piel que nunca se quema y que se broncea profundamente.
- Fenotipo.- Definido exclusivamente en función al color de piel (blanca, cobriza, negra, amarilla, otra), color de ojos (verdes, azules, marrón claro, marrón oscuro,

otro), color del cabello en su estado natural (rojo, rubio, castaño claro, castaño oscuro o negro, otro).

- Edad.- Numero de años cumplidos por el participante a la fecha de su enrolamiento.
- Género.- Género del paciente.
- Índice de masa corporal.- Cociente obtenido de dividir el peso corporal expresado en kilogramos sobre la estatura del individuo elevada al cuadrado, expresado en metros elevado al cuadrado.
- Tipo de empleo.- Tipo de trabajo que desempeña el participante en el Hospital de la Solidaridad, llámese personal de mantenimiento, seguridad, técnico o profesional.
- Índice de radiación UV.- Índice de radiación UV medido con el equipo *SOLARMETER MODEL 6.5 UV INDEX METER* y clasificado en forma estándar como: 0-2 o de riesgo bajo; 3-5 o de riesgo moderado ; 6-7 o de riesgo alto; 8-10 o de riesgo muy alto; mayor de 10 o de riesgo extremo.³⁷

MATERIALES Y MÉTODOS

Dimensión espacial y temporal del estudio

El estudio se llevó a cabo entre los meses de enero y mayo del año 2014 y tuvo como periodo de referencia el periodo marzo-abril 2014. El lugar escogido para llevar a cabo el mismo fue el Hospital de la Solidaridad de Chiclayo, sito en la Av. Salaverry cuadras 6,7 y 8 S/N Chiclayo, Lambayeque - Perú.

Tipo y diseño de investigación

El presente estudio por su diseño, clasifica como un estudio de tipo observacional, descriptivo, de serie de casos de cohorte única. En el mismo se analizó una muestra representativa de trabajadores del Hospital de la Solidaridad de Chiclayo con el objeto de evaluar el efecto atribuible al extracto de *Polypodium leucotomos* en su forma comercial a dosis estándar (dosis de 7.5 mg/kg/d vía oral, fraccionada en tomas cada 8 horas por 72 horas) así como su correlación con la intensidad de exposición a la luz solar en condiciones normales de trabajo. Dicha intensidad fue cuantificada mediante el índice de radiación UV durante el tratamiento. Así mismo se modeló la magnitud de la variación de la dosis eritematosa mínima a fin de analizar los posibles factores que pudieran contribuir a incrementar o disminuir esta. Los factores analizados fueron: edad, género, índice de masa corporal, fototipo cutáneo (I, II, III, IV, V, VI), fenotipo (color de piel, color de ojos, color de cabello), tipo de empleo, dosis eritematosa mínima basal y control, dosis de extracto de *Polypodium leucotomos*, e índice de radiación ultravioleta.

Población y muestra

La población de estudio estuvo compuesta por todos los trabajadores que laboraban en el Hospital de la Solidaridad de Chiclayo, mayores de 18 años de edad, de sexo masculino y femenino, de raza predominantemente mestiza, mientras que la muestra de estudio estuvo compuesta por todos aquellos que cumplieron los siguientes criterios de selección:

- **Criterios de inclusión:** Adulto sano que se encontraba laborando en el Hospital de la Solidaridad de Chiclayo durante el mes de Marzo 2014.
- **Criterios de exclusión:** Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia, antecedente de enfermedad fotosensible, bajo tratamiento con inmunosupresores un mes antes del inicio del estudio o bajo tratamiento tópico con corticoesteroides 2 semanas previo al inicio del estudio.

Cálculo de tamaño de muestra

Para efectos de estimar como efecto un incremento post tratamiento mínimo de 0.25 veces (de $2,0 \pm 0,8$ pre exposición a $2,5 \pm 0,8$ post tratamiento) de la dosis eritematosa mínima, considerando un poder de estudio del 80% y un intervalo de confianza del 95% se calculó que se requería como mínimo una muestra de 41 casos. Sin embargo considerando un 10%-20% de pérdidas en el seguimiento, se decidió que para el presente estudio analizar entre 45 y 50 casos.

Técnicas para el procesamiento de la información

Toda la información registrada en las fichas de recolección de datos fue doblemente digitada en hojas Excel, con el objeto de evitar errores de digitación. Una vez controlada la calidad de los datos se procedió a realizar un análisis descriptivo de los resultados resumiendo las variables cualitativas según su frecuencia relativa y frecuencia absoluta, y las variables cuantitativas según su media y desviación estándar.

Para efectos de analizar el efecto del extracto de *Polypodium leucotomos* se procedió a comparar la dosis eritematosa mínima pre y post ingesta del extracto de *Polypodium leucotomos*. Para tal efecto utilizamos una prueba t para muestras repetidas previa verificación de normalidad de ambas mediciones mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Acto seguido y con el objeto de analizar qué factores afectan este efecto, se modeló la variación de la dosis eritematosa mínima según edad, género, índice de masa corporal, fototipo, fenotipo, color de piel, color de ojos, color de cabello, tipo de empleo, dosis eritematosa mínima basal y control, dosis del extracto de *Polypodium leucotomos*, e índice de radiación ultravioleta, utilizando un modelo de regresión lineal multivariante siguiendo el método step-wise de modelos anidados. Una vez obtenido el modelo final, para cada uno de los factores asociados se estimaron sus respectivos intervalos de confianza al 95%.

Todos estos datos fueron analizados usando el paquete estadístico STATA v 13 (College Station, Texas 77845 USA), considerando como criterio de significancia un valor de $p < 0.05$.

Instrumentos y técnicas utilizadas en la investigación

- **Durham UVB Erythema Test Device.-** El equipo Durham para estimación de la dosis eritematosa mínima fue validado por Otman et al.³⁵ Estos investigadores utilizando el método de paneles como referencia demostraron que tanto su consistencia ($r=0.92$, $p < 0.001$) como su concordancia interobservador ($k = 0.79$, $p < 0.001$) eran bastante aceptables.
- **SOLARMETER MODEL 6.5 UV INDEX METER.-** equipo con el que se realizaron las mediciones del índice de radiación UV a horas 8:00, 10:00, 12:00, 14:00 y 16:00, siguiendo la metodología propuesta por sus fabricantes.
- **Clasificación de Fitzpatrick modificada por Liu et al.-** Tomando en consideración que la clasificación de los voluntarios según fototipo la hará sólo el investigador principal del estudio y que durante el piloto la concordancia intraobservador de este fue muy buena ($k = 0.83$, $p < 0.001$) la fiabilidad de este instrumento es muy alta.

Intervención procedimental

Se realizó un estudio de tipo observacional, descriptivo, de serie de casos de cohorte única en el que cada caso fue utilizado como su propio control. Aprovechando que por primera vez se incluía la medición de la dosis eritematosa mínima como parte de los procedimientos diagnósticos en el Servicio de Dermatología N°1 del Hospital de la Solidaridad de Chiclayo, mediante conducto regular y resaltando que la participación era voluntaria y gratuita, y que cada uno sería enrolado sí y sólo si brinde su consentimiento informado, se invitó a los

trabajadores del Hospital que voluntariamente deseen que se les determine su dosis eritematosa mínima pre y post ingesta del extracto de *Polypodium leucotomos* a dosis estándar (dosis de 7.5 mg/kg/d vía oral, fraccionada en tomas cada 8 horas por 72 horas) y que también fueran evaluados para determinar su fototipo y sus caracteres fenotípicos (color de piel, ojos y cabello).

Para efectos de determinar los fototipos de la población de estudio se siguió la misma metodología descrita y validada por Fitzpatrick.³⁸ Para efectos de determinar el índice de radiación UV, se utilizó el equipo SOLARMETER modelo 6.5, siguiendo la metodología descrita por sus fabricantes. Para efectos de determinar la dosis eritematosa mínima, en todos los casos se utilizó el *Durham UVB Erythema Test Device*, también siguiendo la metodología descrita por sus creadores.³⁵ De esta manera, en nuestro estudio utilizamos la definición clásica de dosis eritematosa mínima, es decir, la dosis mínima de radiación ultravioleta requerida para producir la primera reacción eritematosa perceptible con bordes claramente definidos, observados entre las 16-24 horas luego de la exposición a la radiación ultravioleta.

De esta manera, prospectivamente se captaron a todos los trabajadores que con su consentimiento informado firmado, desearan participar del presente estudio durante el periodo marzo-abril 2014, período al término del cual, todos los datos recogidos fueron vertidos a una base de datos electrónica para su posterior análisis a cargo de un experto estadístico.

Aspectos éticos

De acuerdo con las normas internacionales de investigación y considerando que el presente estudio no clasifica como un estudio experimental en humanos, el presente proyecto fue presentado para aprobación por parte del Comité de Ética de la institución y por parte del jurado calificador de la Universidad Particular San Martín de Porres. Una vez obtenidos la aprobación del protocolo recién se procedió a la recolección de los datos. Toda la información recolectada fue manejada de manera estrictamente confidencial y anónima, garantizándose el respeto a la privacidad de los participantes.



RESULTADOS

Características generales de la población de estudio (Tabla 1): Durante el mes de marzo del 2014, un total de 50 trabajadores del Hospital de Solidaridad de Chiclayo fueron enrolados para el presente trabajo de investigación, pero sólo 47 trabajadores completaron el estudio. El promedio de edad de los mismos fue de 35.7 años de edad con una desviación estándar (DE) de 5.4 años de edad y un rango de edades de 26-47 años (Gráfico 1), siendo el 81% de los mismos mujeres.

Tabla 1. Características generales

Característica	N (%)
Sexo	
Masculino	9 (19.2)
Femenino	38 (80.8)
Edad (Años)	
Media \pm DE	35.7 \pm 5.4
... – 29	6 (12.8)
30 – 39	31 (66.0)
40 – ...	10 (21.2)
IMC (kg/m²)	
Media \pm DE	24.4 \pm 2.2
... – 19.9	2 (4.26)
20 – 24.9	31 (65.7)
25 – ...	14 (29.8)
Tipo de empleo	
Mantenimiento	5 (10.6)
Seguridad	0 (0.0)
Técnicos	19 (40.4)
Profesionales	23 (48.9)

Leyenda: DE, desviación estándar; IMC, Índice de Masa Corporal

Gráfico 1. Distribución de la población de estudio según su edad

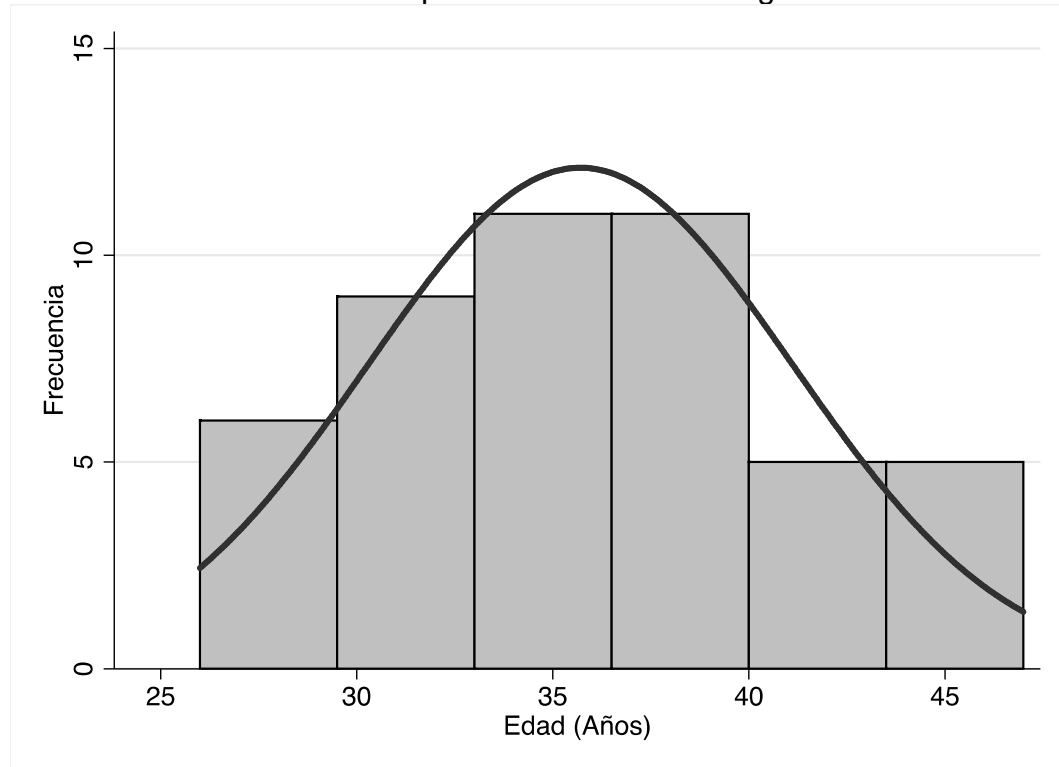
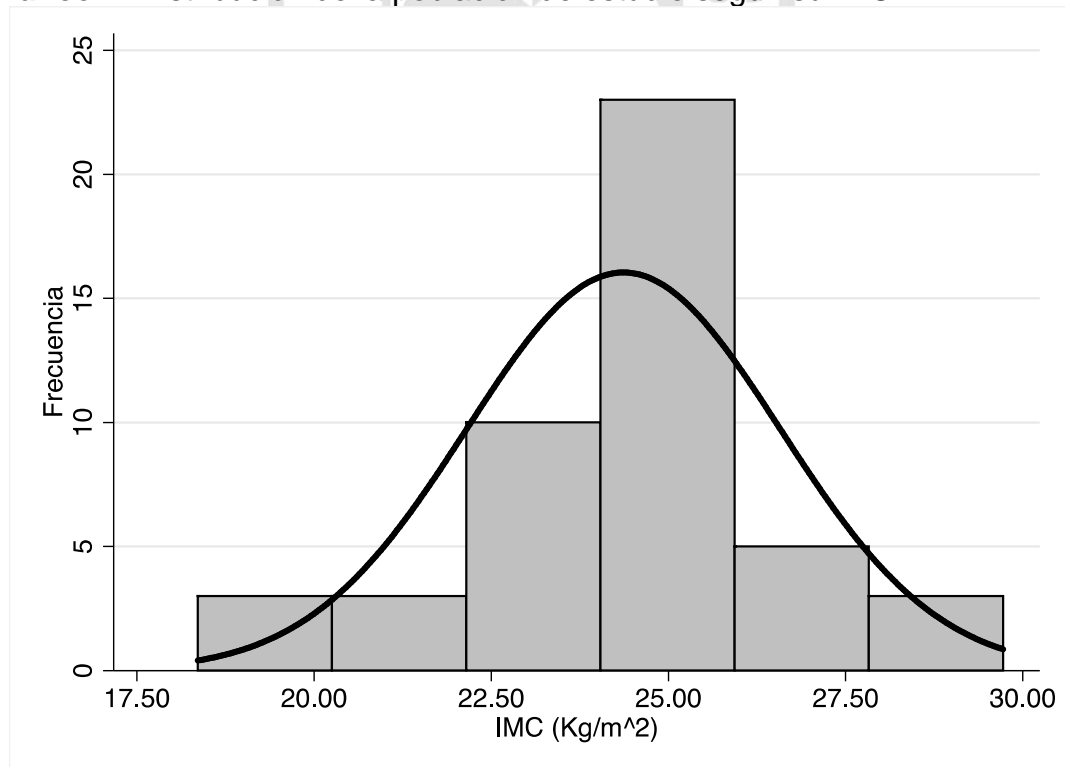


Gráfico 2. Distribución de la población de estudio según su IMC



Fenotipo de la población de estudio (Tabla 2): Fenotípicamente los sujetos de nuestra población de estudio se caracterizaban por ser en su mayoría piel cobriza (68.1%), ojos marrón oscuro (57.5%) y cabello de color castaño oscuro o negro (48.9%).

Tabla 2. Características fenotípicas.

Característica	N (%)
➤ Clasificación de Fitzpatrick	
Fototipo II	4 (8.5)
Fototipo III	29 (61.7)
Fototipo IV	11 (23.4)
Fototipo V	3 (6.4)
➤ Color de Piel	
Blanca	15 (31.9)
Cobriza	32 (68.1)
➤ Color de Ojos	
Azules	2 (4.2)
Marrón claro	18 (38.3)
Marrón oscuro	27 (57.5)
➤ Color de cabello	
Rubio	9 (19.2)
Castaño claro	15 (31.9)
Castaño oscuro o negro	23 (48.9)

Sobre la respuesta al tratamiento (Tabla 3): Según la dosis ajustada al peso de cada paciente la mayoría de estos recibió una dosis total de 960 mg de extracto de *Polypodium leucotomos*, habiendo todos estado expuestos a dosis extremadamente altas de radiación ultravioleta (Gráfico 3). A la evaluación mediante el uso del *Durham Erythema Test Device*, se encontró una DEM pre tratamiento promedio de $1.42 \pm 0.33 \text{ J/cm}^2$ (intervalo de confianza al 95% [IC 95%]: 1.33 – 1.51 J/cm^2) y una DEM post tratamiento promedio de $1.97 \pm 0.40 \text{ J/cm}^2$ (IC 95%: 1.86 – 2.09 J/cm^2) (Gráfico 4), para una diferencial promedio de $0.55 \pm 0.20 \text{ J/cm}^2$ (IC 95%: 0.49 – 0.61 J/cm^2), la cual resultó estadísticamente diferente de cero (valor *p* de la Prueba t para

muestras repetidas, <0.001). Según estos resultados del efecto atribuible al extracto de *Polypodium leucotomos* como agente fotoprotector, en términos de DEM, fue de $40.8 \pm 15.9\%$ (IC 95%: 36.2 – 45.5%).

Tabla 3. Dosis y respuesta al tratamiento

Característica	N (%)
➤ Dosis de <i>Polypodium leucotomos</i>	
720	11 (23.4)
960	29 (61.7)
1200	7 (14.9)
➤ Índice de Radiación Ultravioleta	
08:00	0.59 ± 0.22
10:00	7.73 ± 2.05
12:00	11.72 ± 1.52
14:00	8.24 ± 0.82
16:00	1.64 ± 0.21
➤ DEM Pre (J/cm²)	
Media \pm DE	1.42 ± 0.33
... – 1.4	30 (63.8)
1.5 – 1.9	14 (29.8)
2.0 – ...	3 (6.4)
➤ DEM Post (J/cm²)	
Media \pm DE	1.97 ± 0.40
... – 1.4	5 (10.6)
1.5 – 1.9	19 (40.4)
2.0 – ...	23 (48.9)
➤ DEM Post - Pre (J/cm²)	
Media \pm DE	0.55 ± 0.20
... – 0.49	18 (38.3)
0.50 – 0.74	20 (42.6)
0.75 – ...	9 (19.2)
➤ DEM (Post – Pre) *100/ DEM Pre	
Media \pm DE	$40.8 \pm 15.9\%$
... – 24.9%	9 (19.2)
25 – 49.9%	26 (55.3)
50 – 74.9%	10 (21.3)
75 – ...	2 (4.2)

Leyenda: DE, desviación estándar; DEM, dosis eritematosa mínima

Gráfico 3. Registros diarios de los IRUV durante los días (día 1- día 24) en los que se realizó el estudio

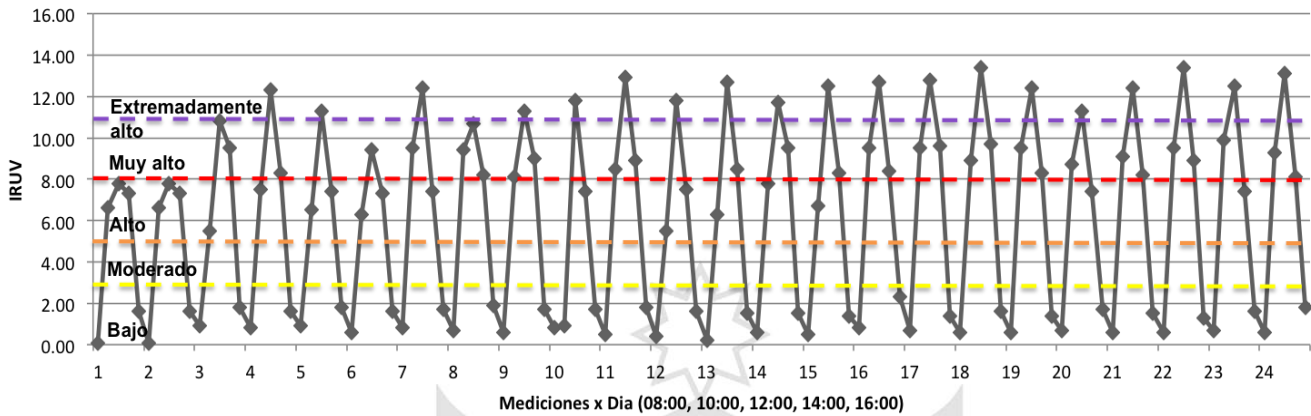
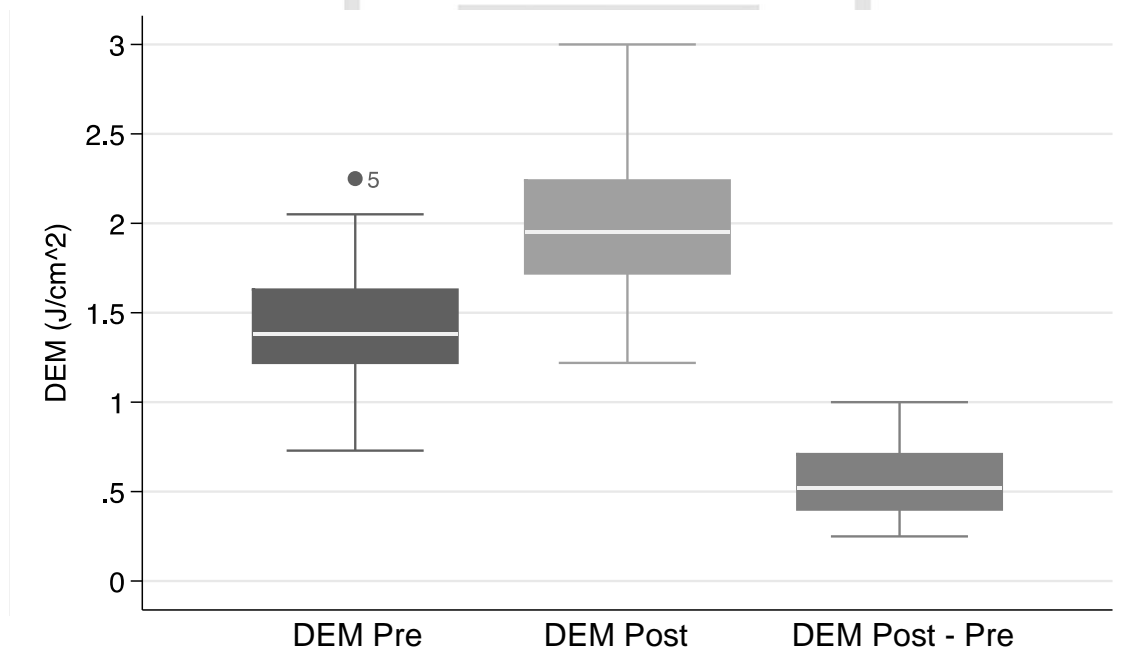


Gráfico 4. Distribución de la población de estudio según su DEM pre y post



Análisis de correlación (Tabla 4): Analizando el grado de correlación de la diferencial DEM Post-Pre y los caracteres fenotípicos de nuestra población de estudio encontramos que el grado de correlación existente entre el fototipo y esta

diferencial es moderada ($r=0.5954$, $p < 0.001$) y que sólo el color de piel ($r=0.3134$, $p=0.032$) guarda una mejor correlación significativa con esta.

Tabla 4. Análisis de correlación

Característica	Diferencial DEM Post-Pre	
	<i>r</i> Pearson	Valor <i>p</i>
➤ Fototipo	0.5954	<0.001
➤ Piel oscura	0.3134	0.032
➤ Color de ojos	0.2177	0.142
➤ Color de Cabello	0.1872	0.208

Leyenda: DEM, dosis eritematosa mínima

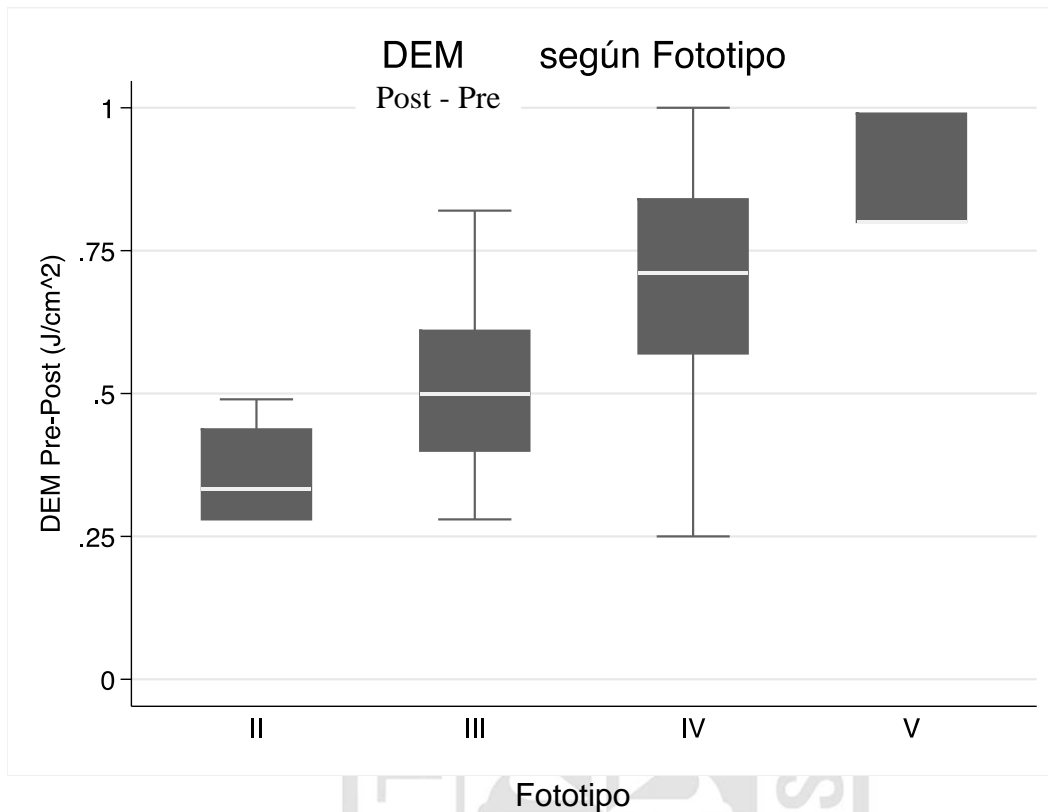
La diferencial DEM Post-Pre según fototipo (Tabla 5): Analizando la diferencial DEM Post-Pre según fototipo encontramos que efectivamente existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), pero estas sólo son significativas entre el fototipo II y IV ($p=0.012$), II y V ($p=0.001$), III y V ($p=0.006$) (Gráfico 5).

Tabla 5. DEM según fototipo

Clasificación de Fitzpatrick	DEM Pre	DEM Post	DEM Post – Pre
	Media ± DE*	Media ± DE*	Media ± DE*
	(Rango)	(Rango)	(Rango)
Fototipo II (n =4)	0.9 ± 0.2 (0.7 – 1.1)	1.3 ± 0.1 (1.2 – 1.4)	0.4 ± 0.1 (0.3 – 0.5)
Fototipo III (n 29)	1.4 ± 0.3 (1.0 – 2.1)	1.9 ± 0.3 (1.5 – 2.5)	0.5 ± 0.1 (0.3 – 0.8)
Fototipo IV (n =11)	1.5 ± 0.3 (1.0 – 2.3)	2.2 ± 0.4 (1.2 – 3.0)	0.7 ± 0.2 (0.3 – 1.0)
Fototipo V (n =3)	1.7 ± 0.1 (1.6 – 1.8)	2.6 ± 0.1 (2.5 – 2.6)	0.9 ± 0.1 (0.8 – 1.0)

Leyenda: DEM, Dosis Eritematosa Mínima; DE, desviación estándar

Gráfico 5. Distribución de la población de estudio según diferencial DEM y Fototipo



Análisis de regresión (Tabla 6): Analizando la capacidad predictiva de las características generales y fenotípicas de nuestra población de estudio con respecto a la diferencial DEM Post-Pre tratamiento, se logró identificar que tanto el índice de radiación ultravioleta ($\beta_1 = 0.23$; IC95%, 0.14 – 0.31, $p < 0.001$) como el fototipo (β_2 (fototipo III vs. II) = 0.15; IC95%, 0.02 – 0.28, $p = 0.028$; β_3 (fototipo IV vs. II) = 0.22; IC95%, 0.07 – 0.37, $p = 0.005$; β_4 (fototipo V vs. II) = 0.36; IC95%, 0.16 – 0.56, $p = 0.001$) de los participantes podían ser utilizados como predictores de la diferencial DEM Post-Pre tratamiento. De hecho dado que el R^2 de nuestro modelo multivariante fue de 0.62, podemos decir que basados en el índice de radiación ultravioleta y en el fototipo de piel de nuestros sujetos de estudio podemos predecir el incremento de la DEM post

tratamiento con el *Polypodium leucotomos* acertadamente hasta en el 62% de los casos.

Tabla 6. Análisis de regresión

Modelo	β	(IC95%)	Valor p
➤ DEM = f(Piel oscura); R² =0.10			
β_0	0.47	0.38 – 0.57	<0.001
β_1 (Piel oscura)	0.13	0.01 – 0.25	0.032
➤ DEM = f(Fototipo); R² =0.35			
β_0	0.36	0.20 – 0.52	<0.001
β_1 (Fototipo III)	0.16	-0.01 – 0.33	0.071
β_2 (Fototipo IV)	0.31	0.12 – 0.50	0.002
β_3 (Fototipo V)	0.50	0.26 – 0.75	<0.001
➤ DEM = f(IRUV); R² =0.49			
β_0	-1.16	-1.69 – -0.64	<0.001
β_1 (IRUV)	0.28	0.20 – 0.37	<0.001
➤ DEM = f(IRUV, Piel oscura); R² =0.54			
β_0	-1.15	-1.66 – -0.64	<0.001
β_1 (IRUV)	0.28	0.19 – 0.36	<0.001
β_2 (Piel oscura)	0.09	0.01 – 0.17	0.046
➤ DEM = f(IRUV, Fototipo); R² =0.62			
β_0	-1.14	-1.61 – -0.68	<0.001
β_1 (IRUV)	0.23	0.15 – 0.32	<0.001
β_2 (Fototipo III vs II)	0.15	0.02 – 0.28	0.028
β_3 (Fototipo V vs II)	0.22	0.07 – 0.37	0.005
β_4 (Fototipo V vs II)	0.36	0.16 – 0.56	0.001

Leyenda: DEM, Dosis Eritematosa Mínima; IRUV, Índice de Radiación Ultravioleta

DISCUSIÓN

De acuerdo con nuestros resultados el efecto atribuible al extracto de *Polypodium leucotomos* como agente fotoprotector para incrementar la DEM en trabajadores expuestos a altos índices de radiación ultravioleta, y con ello disminuir el riesgo de quemaduras, se encuentra entre el 36% y el 46%. Este resultado fue muy similar al reportado originalmente por Gonzales y col. quienes analizaron un total de 8 voluntarios sanos expuestos a un tratamiento oral con el extracto de *Polypodium leucotomos* con una dosis total diaria de 1080 mg, incrementando su DEM $98.0 \pm 34 \text{ J/cm}^2$. Aunque cabe resaltar que en nuestro estudio la diferencia de la DEM pre y post tratamiento ($0.55 \pm 0.20 \text{ J/cm}^2$; IC 95%: $0.49 - 0.61 \text{ J/cm}^2$) fue menor.

Adicionalmente, encontramos que la diferencial DEM pre-post tratamiento se incrementaba mientras mayor era la intensidad de radiación ultravioleta a la que se encontraban expuestos los trabajadores. Según nuestros resultados por cada unidad incrementada del índice de radiación ultravioleta la diferencial DEM pre-post tratamiento se incrementaba en entre 0.15 y 0.32 J/cm^2 . Una explicación plausible para este hallazgo puede explicarse debido a que las propiedades fotoprotectoras del extracto de *Polypodium leucotomos* se acentúan en aquellos que se encuentran expuestos a radiaciones solares más intensas y por ende más fototóxicas. Tal como fuera comprobado por Middelkamp-Hup y col, el uso de extracto de *Polypodium leucotomos* (7.5 mg/kg/d) histológicamente reduce significativamente el número de

células quemadas por la radiación solar, preserva las células de Langerghans, disminuye la infiltración de mastocitos triptasa-positivos, y disminuye la vasodilatación cuando sujetos sanos son expuestos a dosis controladas de radiación ultravioleta tipo A.²² En forma similar Janczyk y col, demostraron que el uso vía oral de extracto de *Polypodium leucotomos* (7.5 mg/kg/d) ejerce su efecto fotoprotector contra la exposición a dosis simuladas de radiación solar al inhibir el incremento mediado por la radiación solar de los niveles séricos del factor de necrosis tumoral alfa y de óxido nítrico (efecto antioxidante), lo que resulta en un aumento de la supervivencia celular.³⁹ De acuerdo con Parrado et al el mecanismo de acción que explica el efecto fotoprotector del extracto de *Polypodium leucotomos* incluye su alto contenido de compuestos fenólicos, los cuales le permiten inhibir la generación y liberación de especies reactivas del oxígeno (ROS) estimulada por la radiación ultravioleta, así como la inhibición del activador de proteínas 1 (AP-1) y del factor nuclear κB (NF-κB), lo cual previene el daño al ADN estimulado por los ROS y radiación ultravioleta.⁴⁰

En nuestro estudio otro factor que fue encontrado asociado a un mayor efecto fotoprotector del extracto de *Polypodium leucotomos* fue el fototipo, encontrándose que mientras más oscuro el fototipo del participante, mayor el grado de protección conferido por el extracto de *Polypodium leucotomos*. Según los resultados de nuestro estudio aquellos participantes con fototipo III, IV y V, comparados con sujetos de fototipo II expuestos a los mismos niveles de radiación, incrementaron su DEM post tratamiento en promedio en ~0.15, ~0.22 y ~0.36, respectivamente. Este hallazgo es un hallazgo muy interesante desde el punto de vista práctico dado que

implicaría que contrario a lo esperado aquellos que tienen mayor sensibilidad a las quemaduras solares como son los sujetos de fototipos II o III se beneficiarían menos que los de fototipo IV o V con el uso de agentes fotoprotectores como el extracto de *Polypodium leucotomos*. Una explicación plausible para este hallazgo lo podemos encontrar en el hecho que agentes como el extracto de *Polypodium leucotomos* actúan a nivel de los queratinocitos y que estos en el caso de los sujetos de fototipos IV o V a diferencia de los de fototipos II o III se encuentran menos propensos a degenerar como consecuencia de la radiación solar. Es decir que los queratinocitos que son de por sí más resistentes a la degeneración por radiación solar se vuelven aún más resistentes con agentes fotoprotectores como el extracto de *Polypodium leucotomos*, siendo este efecto menor en los fototipos más sensibles.

Otro aspecto que debemos resaltar es que nuestra población de estudio es fenotípicamente muy diferente a la de la mayoría de estudios que hemos citado previamente, dado que estos por lo general han sido realizados en población caucásica precisamente porque en ellos se entiende que las complicaciones de la sobre exposición a la radiación solar son más frecuentes. Sin embargo, según los hallazgos de nuestro estudio, poblaciones como la de los trabajadores del Hospital de la Solidaridad de Chiclayo, cuyas instalaciones corresponden más con las de un hospital de campaña, que con las de un hospital propiamente dicho, independientemente del fenotipo, están expuestos a tan altas dosis de radiación solar que bien pueden beneficiarse de agentes protectores como el extracto de *Polypodium leucotomos*, en condiciones normales de trabajo. Esto último cobra mayor importancia si tomamos en consideración que por efectos del calentamiento

global los índices de radiación ultravioleta promedio en la costa del Perú, lejos de disminuir, vienen incrementándose año a año. En nuestro estudio nuestra población de estudio estuvo expuesta al medio día en promedio a índices de radiación solar superiores a 11, el cual es considerado como extremo según la Organización Mundial de la Salud.⁴¹

Finalmente, es correcto precisar de que el nivel de evidencia (nivel III) y el correspondiente poder de recomendación (nivel C) de nuestro estudio, limitan los resultados y recomendaciones del mismo exclusivamente a nuestra población de estudio, por lo cual estos resultados sólo pueden ser interpretados dentro del contexto en el cual fueron encontrados y no constituyen evidencia para la recomendación práctica en general. Sin embargo, dado que nuestro estudio se realizó en una muestra representativa de los trabajadores del Hospital de la Solidaridad de Chiclayo nuestras conclusiones perfectamente pueden utilizarse para plantear recomendaciones que afecten a esta población y a poblaciones similares a la misma.

CONCLUSIONES

- El personal que labora en el Hospital de la Solidaridad de Chiclayo se encuentra expuesto a niveles de radiación ultravioleta extremas en condiciones normales de trabajo.
- Sin embargo, cuando los mismos recibieron una dosis estándar de extracto de *Polypodium leucotomos* como agente fotoprotector, los mismos incrementaron significativamente su dosis eritematosa mínima.
- El efecto atribuible al extracto de *Polypodium leucotomos* como agente fotoprotector en el caso de los trabajadores del Hospital de la Solidaridad de Chiclayo, fue estimado en alrededor del 40%, en términos de un incremento de su dosis eritematosa mínima.
- Entre los mismos, mientras más alta la intensidad de radiación a la que fueron expuestos y más alto su fototipo, mayor fue el efecto atribuible al tratamiento con el extracto de *Polypodium leucotomos*.

RECOMENDACIONES

- Según la medicina basada en evidencia, el presente trabajo de investigación posee un grado III de evidencia y un nivel C de fortaleza de recomendación, por lo que existe “insuficiente evidencia para hacer una recomendación para la práctica en general”, de ahí que nuestra primera recomendación sería realizar un estudio a gran escala, idealmente un ensayo clínico aleatorizado, con el objeto de confirmar nuestros resultados e incrementar nuestra fortaleza de recomendación.
- Dado que la fortaleza de recomendación de nuestro estudio sí nos plantea recomendaciones efectivas en el caso de nuestra población de estudio y poblaciones similares, se recomienda el uso de agentes fotoprotectores como el extracto de *Polypodium leucotomos* en el caso específico de los trabajadores de Hospitales de la Solidaridad, toda vez que estos cuando están emplazados como hospitales de campaña pueden exponer a sus trabajadores a altos niveles de radiación ultravioleta.
- Dado que este es el primer estudio de su género en nuestro país, se recomienda ampliar el mismo a la población general con el fin de determinar si el extracto de *Polypodium leucotomos* puede ser igual o más efectivo en otras poblaciones con alto riesgo laboral de sobre-exposición solar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Surdu S, Fitzgerald EF, Bloom MS, Boscoe FP, Carpenter DO, Haase RF, Gurzau E, Rudnai P, Koppova K, Fevotte J, Leonardi G, Vahter M, Goessler W, Kumar R, Fletcher T. Occupational exposure to ultraviolet radiation and risk of non-melanoma skin cancer in a multinational European study. *PloS one*. 2013;8(4):e62359.
2. Cestari TF, Oliveira FB, Boza JC. Considerations on photoprotection and skin disorders. *Annales de dermatologie et de venerologie*. 2012;139 Suppl 4:S135-143.
3. Rastogi RP, Incharoensakdi A. Characterization of UV-screening compounds, mycosporine-like amino acids, and scytonemin in the cyanobacterium *Lyngbya* sp. CU2555. *FEMS microbiology ecology*. 2014;87(1):244-256.
4. Tanew A, Radakovic S, Gonzalez S, Venturini M, Calzavara-Pinton P. Oral administration of a hydrophilic extract of *Polypodium leucotomos* for the prevention of polymorphic light eruption. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2012;66(1):58-62.
5. Alonso-Lebrero JL, Dominguez-Jimenez C, Tejedor R, Brieva A, Pivel JP. Photoprotective properties of a hydrophilic extract of the fern *Polypodium leucotomos* on human skin cells. *Journal of photochemistry and photobiology B, Biology*. 2003;70(1):31-37.
6. Reyes E, Jaen P, de las Heras E, Carrion F, Alvarez-Mon M, de Eusebio E, Alvare M, Cuevas J, Gonzalez S, Villarrubia VG. Systemic immunomodulatory

- effects of *Polypodium leucotomos* as an adjuvant to PUVA therapy in generalized vitiligo: A pilot study. *Journal of dermatological science*. 2006;41(3):213-216.
7. Solivellas BM, Martin TC. *Polypodium leucotomos* Extract use to prevent and reduce the risk of infectious diseases in high performance athletes. *Infection and drug resistance*. 2012;5:149-153.
 8. Martinez-Fernandez AR, Nogal-Ruiz JJ, Lopez-Aban J, Ramajo V, Oleaga A, Manga-Gonzalez Y, Hillyer GV, Muro A. Vaccination of mice and sheep with Fh12 FABP from *Fasciola hepatica* using the new adjuvant/immunomodulator system ADAD. *Veterinary parasitology*. 2004;126(3):287-298.
 9. Konda S, Geria AN, Halder RM. New horizons in treating disorders of hyperpigmentation in skin of color. *Seminars in cutaneous medicine and surgery*. 2012;31(2):133-139.
 10. Nestor M, Bucay V, Callender V, Cohen JL, Sadick N, Waldorf H. *Polypodium leucotomos* as an Adjunct Treatment of Pigmentary Disorders. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*. 2014;7(3):13-17.
 11. Breithaupt AD, Jacob SE. Subacute cutaneous lupus erythematosus: a case report of *Polypodium leucotomos* as an adjuvant therapy. *Cutis*. 2012;89(4):183-184.
 12. Pineiro Alvarez B. [2 years personal experience in anapsos treatment of psoriasis in various clinical forms]. *Medicina cutanea ibero-latino-americana*. 1983;11(1):65-72.
 13. Middelkamp-Hup MA, Bos JD, Rius-Diaz F, Gonzalez S, Westerhof W. Treatment of vitiligo vulgaris with narrow-band UVB and oral *Polypodium leucotomos* extract: a randomized double-blind placebo-controlled study. *Journal*

- of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV. 2007;21(7):942-950.
14. Ahmed AM, Lopez I, Perese F, Vasquez R, Hynan LS, Chong B, Pandya AG. A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial of oral Polypodium leucotomos extract as an adjunct to sunscreen in the treatment of melasma. *JAMA dermatology*. 2013;149(8):981-983.
 15. Aguilera P, Carrera C, Puig-Butille JA, Badenas C, Lecha M, Gonzalez S, Malveyh J, Puig S. Benefits of oral Polypodium Leucotomos extract in MM high-risk patients. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. 2013;27(9):1095-1100.
 16. Rodriguez-Yanes E, Cuevas J, Gonzalez S, Mallol J. Oral administration of Polypodium leucotomos delays skin tumor development and increases epidermal p53 expression and the anti-oxidant status of UV-irradiated hairless mice. *Experimental dermatology*. 2014;23(7):526-528.
 17. Reuter J, Wolfle U, Korting HC, Schempp C. Which plant for which skin disease? Part 2: Dermatophytes, chronic venous insufficiency, photoprotection, actinic keratoses, vitiligo, hair loss, cosmetic indications. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG*. 2010;8(11):866-873.
 18. Choudhry SZ, Bhatia N, Ceilley R, Hougeir F, Lieberman R, Hamzavi I, Lim HW. Role of oral Polypodium leucotomos extract in dermatologic diseases: a review of the literature. *Journal of drugs in dermatology : JDD*. 2014;13(2):148-153.
 19. Rodriguez-Yanes E, Juarranz A, Cuevas J, Gonzalez S, Mallol J. Polypodium leucotomos decreases UV-induced epidermal cell proliferation and enhances p53

- expression and plasma antioxidant capacity in hairless mice. *Experimental dermatology*. 2012;21(8):638-640.
20. Palomino OM. Current knowledge in *Polypodium leucotomos* effect on skin protection. *Archives of dermatological research*. 2015;307(3):199-209.
21. Middelkamp-Hup MA, Pathak MA, Parrado C, Goukassian D, Rius-Diaz F, Mihm MC, Fitzpatrick TB, Gonzalez S. Oral *Polypodium leucotomos* extract decreases ultraviolet-induced damage of human skin. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2004;51(6):910-918.
22. Middelkamp-Hup MA, Pathak MA, Parrado C, Garcia-Caballero T, Rius-Diaz F, Fitzpatrick TB, Gonzalez S. Orally administered *Polypodium leucotomos* extract decreases psoralen-UVA-induced phototoxicity, pigmentation, and damage of human skin. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2004;50(1):41-49.
23. Gonzalez S, Pathak MA, Cuevas J, Villarrubia VG, Fitzpatrick TB. Topical or oral administration with an extract of *Polypodium leucotomos* prevents acute sunburn and psoralen-induced phototoxic reactions as well as depletion of Langerhans cells in human skin. *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine*. 1997;13(1-2):50-60.
24. Chen L, Hu JY, Wang SQ. The role of antioxidants in photoprotection: a critical review. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2012;67(5):1013-1024.
25. Gonzaga ER. Role of UV light in photodamage, skin aging, and skin cancer: importance of photoprotection. *American journal of clinical dermatology*. 2009;10 Suppl 1:19-24.

26. Buller DB, Andersen PA, Walkosz BJ, Scott MD, Maloy JA, Dignan MB, Cutter GR. Compliance with sunscreen advice in a survey of adults engaged in outdoor winter recreation at high-elevation ski areas. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2012;66(1):63-70.
27. Garcia F, Pivel JP, Guerrero A, Brieva A, Martinez-Alcazar MP, Caamano-Somoza M, Gonzalez S. Phenolic components and antioxidant activity of Fernblock, an aqueous extract of the aerial parts of the fern *Polypodium leucotomos*. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*. 2006;28(3):157-160.
28. Pluemsamran T, Onkoksoong T, Panich U. Caffeic acid and ferulic acid inhibit UVA-induced matrix metalloproteinase-1 through regulation of antioxidant defense system in keratinocyte HaCaT cells. *Photochemistry and photobiology*. 2012;88(4):961-968.
29. Saija A, Tomaino A, Trombetta D, De Pasquale A, Uccella N, Barbuzzi T, Paolino D, Bonina F. In vitro and in vivo evaluation of caffeic and ferulic acids as topical photoprotective agents. *International journal of pharmaceutics*. 2000;199(1):39-47.
30. Bernd A, Ramirez-Bosca A, Huber H, Diaz Alperi J, Thaci D, Sewell A, Quintanilla Almagro E, Holzmann H. In vitro studies on the immunomodulating effects of polypodium leucotomos extract on human leukocyte fractions. *Arzneimittel-Forschung*. 1995;45(8):901-904.
31. Sempere JM, Rodrigo C, Campos A, Villalba JF, Diaz J. Effect of Anapsos (*Polypodium leucotomos* extract) on in vitro production of cytokines. *British journal of clinical pharmacology*. 1997;43(1):85-89.

32. Navarro-Blasco FJ, Sempere JM. Modification of the inflammatory activity of psoriatic arthritis in patients treated with extract of *Polypodium leucotomos* (Anapsos). *British journal of rheumatology*. 1998;37(8):912.
33. Sempere-Ortells JM, Campos A, Velasco I, Marco F, Ramirez-Bosca A, Diaz J, Pardo J. Anapsos (*Polypodium leucotomos*) modulates lymphoid cells and the expression of adhesion molecules. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society*. 2002;46(2):185-190.
34. Gonzalez S, Pathak MA. Inhibition of ultraviolet-induced formation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, erythema and skin photosensitization by *polypodium leucotomos*. *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine*. 1996;12(2):45-56.
35. Otman SG, Edwards C, Gambles B, Anstey AV. Validation of a semiautomated method of minimal erythema dose testing for narrowband ultraviolet B phototherapy. *The British journal of dermatology*. 2006;155(2):416-421.
36. Liu W, Lai W, Wang XM, Li L, Tian Y, Lu Y, Wu YY, Li Y, Zhang P, Wu Y, Chen L. Skin phototyping in a Chinese female population: analysis of four hundred and four cases from four major cities of China. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2006;22(4):184-188.
37. Fioletov V, Kerr JB, Fergusson A. The UV index: definition, distribution and factors affecting it. *Canadian journal of public health = Revue canadienne de sante publique*. 2010;101(4):15-9.
38. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Archives of dermatology*. 1988;124(6):869-871.

39. Janczyk A, Garcia-Lopez MA, Fernandez-Penas P, Alonso-Lebrero JL, Benedicto I, Lopez-Cabrera M, Gonzalez S. A Polypodium leucotomos extract inhibits solar-simulated radiation-induced TNF-alpha and iNOS expression, transcriptional activation and apoptosis. *Experimental dermatology*. 2007;16(10):823-829.
40. Parrado C, Mascaraque M, Gilaberte Y, Juarranz A, Gonzalez S. Fernblock (Polypodium leucotomos Extract): Molecular Mechanisms and Pleiotropic Effects in Light-Related Skin Conditions, Photoaging and Skin Cancers, a Review. *International journal of molecular sciences*. 2016;17(7).
41. World Health Organization., World Meteorological Organization., United Nations Environment Programme., International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection. *Global solar UV index : a practical guide*. Geneva: World Health Organization; 2002.

Anexo 2. Instrumento de recolección de datos

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Ficha N°: _____

I. Perfil de la Paciente

- **Edad** : _____ años
 ➤ **Género** () Masculino () Femenino
 ➤ **Índice de masa corporal** : _____ kg / (_____ m)² = _____ kg/m²
 ➤ **Fototipo**
 () Fototipo I () Fototipo II () Fototipo III
 () Fototipo IV () Fototipo V () Fototipo VI
 ➤ **Fenotipo**
 Color de piel Color de ojos Color del cabello
 () Blanca () Verdes () Rojo
 () Cobriza () Azules () Rubio
 () Negra () Marrón claro () Castaño claro
 () Amarilla () Marrón oscuro () Castaño oscuro
 () Otra: _____ () Otro: _____ () Negro
 () Otro: _____
 ➤ **Tipo de empleo**
 () Personal de mantenimiento
 () Personal de seguridad
 () Personal técnico
 () Personal profesional

II. Indicadores de interés

- **Variación de la DEM**

Basal	Control
Fecha (dd/mm): _____ / _____	Fecha (dd/mm): _____ / _____
Hora (hh:mm) : _____ : _____	Hora (hh:mm) : _____ : _____
DEM: _____ J/cm ²	DEM: _____ J/cm ²
- **Dosis de Fernblock®**

Dosis Recomendada:	Dosis Ingerida:
() 720 mg/d	D1: _____ total mg/d
() 960 mg/d	D2: _____ total mg/d
() 1200 mg/d	D3: _____ total mg/d
mg/kg/d: _____	mg/kg/d promedio: _____
- **Índice de Radiación UV**

Día 1	Día 2	Día 3
08:00: _____	08:00: _____	08:00: _____
10:00: _____	10:00: _____	10:00: _____
12:00: _____	12:00: _____	12:00: _____
14:00: _____	14:00: _____	14:00: _____
16:00: _____	16:00: _____	16:00: _____
Índice UV promedio: _____		

Anexo 3. Codificación de variables

Tabla 8. Codificación de variables

CÓDIGO	VARIABLE E INDICADOR DE CALIFICACIÓN
<u>1</u> <u>2</u>	1. Edad: __ __ años
<u>4</u>	2. Género (0) Masculino (1) Femenino
<u>6</u> <u>7</u> <u>8</u>	3. IMC: __ __ . __ kg/m ²
<u>10</u>	4. Fototipo (0) Fototipo I (1) Fototipo II (2) Fototipo III (3) Fototipo IV (4) Fototipo V (5) Fototipo VI
<u>12</u> <u>13</u> <u>14</u>	5. Fenotipo – Color de piel (0) Blanca (1) Cobriza (2) Negra (3) Amarilla (4) Otro Fenotipo – Color de ojos (0) Verdes (1) Azules (2) Marrón claro (3) Marrón oscuro (4) Otro Fenotipo – Color de cabello (0) Rojo (1) Rubio (2) Castaño claro (3) Castaño oscuro (4) Negro (5) Otro
<u>16</u>	6. Tipo de empleo (0) Personal de mantenimiento (1) Personal de seguridad (2) Personal técnico (3) Personal profesional

Tabla 8. Codificación de variables

CÓDIGO	VARIABLE E INDICADOR DE CALIFICACIÓN
____ 18 19 20	7. Variación de la DEM: ____ J/cm ²
____ 22 23 24	8. Dosis de Fernblock ingerida: ____ . ____ mg/kg/d promedio
____ 26 27	9. Índice de radiación UV promedio: ____



Anexo 4. Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del ensayo: “EFECTO FOTOPROTECTOR DEL POLYPODIUM LEUCOTOMOS EN TRABAJADORES CON ALTO RIESGO DE SOBREEXPOSICIÓN SOLAR”

Yo (Nombre y apellidos) _____, he decidido participar en este estudio como sujeto de investigación. Antes de tomar esta decisión mi firma deja constancia de que:

- Se me ha explicado la naturaleza del estudio, el cual busca analizar el efecto del extracto de *Polypodium leucotomos* en su forma comercial en cápsulas Fernblock®, como protector solar, en trabajadores con alto riesgo de sobreexposición solar.
- Se me ha explicado que el Fernblock® es un producto antioxidante natural, considerado un complemento alimenticio, que se obtiene del extracto de las hojas de la planta *Polypodium leucotomos*, producidas en España por INDUSTRIA FARMACEUTICA CANTABRIA S.A., e importadas y distribuidas en el Perú por DROGUERÍA FARMACARE S.A.C.
- Se me ha explicado que para su elaboración se emplean estrictos procedimientos de laboratorio, según estándares de calidad farmacéuticos para garantizar una seguridad y eficacia totales.
- Se me ha explicado que, en más de 15 años de uso en España, no se han reportado efectos secundarios importantes por la ingesta de dichas cápsulas.
- Se me ha explicado que, se me realizarán mediciones de DOSIS ERITEMATOSA MÍNIMA, antes y después de tomar las cápsulas de Fernblock®, para lo cual utilizarán el *Durham minimal erythema dose testing device*, que es una lámpara de radiación ultravioleta que se usa con fines diagnósticos y de investigación.
- En dicho procedimiento, la piel de la cara interna de mi antebrazo izquierdo, será expuesta por breves minutos a dicha lámpara, la cual tiene un panel que emite diferentes dosis de radiación ultravioleta y que 24 horas después, se identificará cuál entre estas dosis de radiación es la mínima dosis que me produce eritema en la piel (enrojecimiento). Ver fotografía. Dicho enrojecimiento será transitorio, desapareciendo por completo con el pasar de los días.
- La dosis de cápsulas de Fernblock® (extracto de *Polypodium leucotomos*) que recibiré, será calculada considerando los siguientes rangos de peso:
 - Si peso menos de 55 kg, 720 mg/día (1 cápsula mañana, tarde y noche);
 - Si peso de 56 a 70 kg, 960 mg/día (2 cápsulas en la mañana, y 1 tarde y noche);
 - Si peso más de 70 kg, 1200 mg/día (2 cápsulas mañana y tarde, y 1 en la noche),

- En todos los casos en tres dosis, una dosis c/8 horas, por 72 horas.
- Para facilitar un adecuado consumo se me entregará un pastillero y la indicación específica para cada toma diaria.
- Luego de las 72 horas, procederán a medirme la DOSIS ERITEMATOSA MÍNIMA Post tratamiento, para lo cual, la piel de la cara interna de mi antebrazo derecho, será expuesto por breves minutos a la lámpara Durham, 24 horas después se identificará cuál entre estas dosis de radiación, es la mínima dosis que me produce eritema en la piel (enrojecimiento).
- Se me ha explicado que podrán participar de este estudio todos los trabajadores voluntarios sanos que laboren en el Hospital de la Solidaridad de Chiclayo, mayores de 18 años de edad, de sexo masculino y femenino, de raza predominantemente mestiza.
- Se me ha explicado que no se incluirán en el presente estudio mujeres embarazadas o en periodo de lactancia, que tengan antecedente de enfermedad fotosensible, que estén bajo tratamiento de alguna enfermedad importante un mes antes del inicio del estudio.
- Entiendo que mi participación en el presente estudio es voluntaria y gratuita, y que participaré, sí y sólo si, brinde mi consentimiento informado, así mismo, entiendo los beneficios y riesgos de mi participación en el presente estudio.
- He tenido la oportunidad de hacer preguntas y sé que cualquier pregunta que tenga en el futuro será respondida el investigador del estudio.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- Comprendo que puedo retirarme del estudio:
 - Cuando quiera
 - Sin tener que dar explicaciones
 - Sin que esto repercuta en mis relaciones con mi centro de labores
- Y entiendo que se me entregará otra copia igual a este formato de consentimiento.

Firma del participante: _____ Fecha: __ __/ __ __/2014

Firma del testigo: _____ Fecha: __ __/ __ __/2014