



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

TOXICIDAD DE LAS BENZOFENONAS EN COSMÉTICA

Memoria de Trabajo Fin de Grado
Sant Joan d'Alacant
Junio 2023

Autora: Celia Vergel Sigüenza
Modalidad: Revisión bibliográfica
Tutora: Amelia Ramón López

Índice

1. Resumen.....	1
1.1 Abstrac.....	2
2. Introducción.....	3
2.1 Radiación solar.....	3
2.2 Fotoprotectores.....	4
2.3 Benzofenonas.....	6
3. Objetivos.....	10
4. Materiales y métodos.....	10
4.1 Diseño.....	10
4.2 Fuente de obtención de datos.....	10
4.3 Tratamiento de la información.....	10
4.4 Selección final de los artículos.....	11
5. Resultados.....	12
6. Discusión.....	17
7. Conclusiones.....	35
8. Bibliografía.....	36



1. Resumen

Objetivos: el objetivo principal de este trabajo es estudiar la toxicidad y las reacciones adversas de las benzofenonas utilizadas en cosmética, con el fin de analizar los posibles riesgos para la población que conllevan estas sustancias.

Materiales y métodos: este trabajo se ha realizado mediante una revisión bibliográfica de los artículos recuperados de Medline, Vía PubMed, en lenguas tanto inglesa como española, que trataban de la toxicidad y/o reacciones adversas de las benzofenonas en cosmética.

Resultados: en relación con las reacciones adversas o la toxicidad de las benzofenonas encontramos diversos resultados, como que pueden ser disruptores endocrinos, mutágenos, fotoalérgenos, etc. En los estudios analizados realizados *in vitro*, no se obtuvieron conclusiones relevantes ya que los métodos utilizados, para lo estudiado no daba lugar a resultados concluyentes. Mientras que, en los estudios realizados *in vivo*, sí que se vio la relevancia de las benzofenonas como potenciales fotoalérgenos, principalmente la benzofenona 3 (BP3).

Conclusiones: Teniendo en cuenta todo lo analizado a lo largo del trabajo podemos afirmar que las benzofenonas, en especial la BP3, es un potencial fotoalérgico.

También hay que destacar la necesidad de un mayor número de ensayos *in vivo* para aumentar el conocimiento de estas reacciones adversas, ya que al realizar ensayos *in vitro* los resultados no son concluyentes.

Remarcar la necesidad de más estudios que aumenten el conocimiento sobre los posibles riesgos de estas sustancias y de esta forma, disminuir ciertos problemas en la población.

Palabras clave: Benzofenonas, Reacciones adversas, Toxicidad y Cosmética

1.1 Abstrac

Objectives: the main objective of this work is to study the toxicity and adverse reactions of benzophenones used in cosmetics, in order to study the possible risks for the population associated with these substances.

Methods: this work has been carried out by means of a bibliographic review of the articles retrieved from Medline, via PubMed, in both English and Spanish languages, which dealt with the toxicity and/or adverse reactions of benzophenones in cosmetics.

Results: in relation to the adverse reactions or toxicity of benzophenones we found various results, such as that they can be endocrine disruptors, mutagens, photoallergens, etc. In the analyzed studies carried out *in vitro*, no relevant conclusions were obtained since the methods used did not give conclusive results for what was studied. On the other hand, in the *in vivo* studies, the relevance of benzophenones as potential photoallergens, mainly benzophenone-3, was observed.

Conclusions: Taking into account all that has been analyzed throughout this work, we can affirm that benzophenones, especially BP3, are potential photoallergens.

It is also necessary to highlight the need for a greater number of *in vivo* tests to increase the knowledge of these adverse reactions, since the results of *in vitro* tests are not conclusive.

To emphasize the need for more studies to increase knowledge of the possible risks of these substances and thus reduce certain problems in the population.

Key words: Benzophenones, Adverse reactions, Toxicity and Cosmetics.

2. Introducción.

2.1 Radiación solar.

La energía que llega a la tierra desde el sol, incidiendo sobre su superficie, se clasifica en 3 grupos de radiación: la infrarroja (IR), la ultravioleta (UV) y la visible. Pequeñas cantidades de radiación UV es necesaria para activar la vitamina D, realizar la fotosíntesis, etc. De todo el espectro que llega a la superficie terrestre solo un 7% pertenece a este rango. Pero esta radiación también tiene consecuencias negativas, ya que es capaz de romper moléculas biológicas, causando problemas a distintos niveles, tales como: cáncer de piel si las alteraciones son a nivel del ADN, cataratas si hay una gran exposición ocular, etc.

El rango ultravioleta colinda con el espectro visible, en el rango de frecuencia entre 8×10^{14} y 3×10^{14} Hz. Dentro de las radiaciones UV, encontramos 3 tipos distintos: A, B y C.

La radiación UVA, se le conoce como luz negra. Su rango de longitud de onda se encuentra entre 315 y 400 nm, es la radiación menos dañina. Es la principal causante del fotoenvejecimiento prematuro de la piel, se utiliza para hacer materiales fluorescentes que emiten radiación electromagnética en el espectro visible y en fototerapia.

La UVB se encuentra entre 280 y 315 nm. Gran parte no alcanza la superficie terrestre al ser bloqueada por la atmósfera. Es capaz de destruir capas biológicas debido a su energía y es la causante de las quemaduras solares.

Por último, la UVC corresponde al rango entre 100 y 280 nm de longitud de onda. Esta radiación es la causante de la capa de ozono, ya que al colisionar los fotones con los átomos de oxígeno la energía de intercambio causa la formación de ozono, es decir, que la radiación UVC es absorbida antes de llegar a la superficie terrestre. Se utilizan como purificadores de agua y aire las lámparas de ozono artificiales, por su potencial bactericida ¹.

2.2 Fotoprotectores

Los cosméticos, según la legislación europea, son productos (sustancias o mezclas de ellas) que tienen por objetivo limpiar, corregir olores, perfumar y/o modificar el aspecto de piel, dientes, mucosas de la cavidad oral, pelo, uñas, labios y otras superficies del cuerpo, tras ser aplicados sobre estas.

Se pueden encontrar distintas formulaciones, como pueden ser: geles, brumas, jabones, leches, cremas, champús, lociones, dentífricos, fotoprotectores, entre muchos otros. A su vez, se clasifican en función del tiempo que estarán en contacto con la superficie corporal para la que esté destinado el producto, encontramos *leave-on* o *stay-on*, que son aquellos preparados para permanecer en contacto durante un tiempo indefinido y los *rinse-off* o *wash-off* que son aquellos que se deberán eliminar con agua pasado un tiempo preestablecido ².

Dentro de los componentes de los cosméticos encontramos distintas sustancias como son: principios activos (se encuentran en los cosméticos para eliminar problemas específicos, no para tratar teniendo un efecto terapéutico, ya que en este caso se trataría de un fármaco), vehículo, tensioactivos, conservantes, etc. ³

Los fotoprotectores se han vuelto más atractivos debido a la concienciación de la población frente a los daños ocasionados por las radiaciones que inciden día a día en la piel. Los fotoprotectores son el cosmético indicado para proteger el cuerpo de la radiación UV, disminuyendo o evitando así los posibles daños que se ocasionarían en caso de no usar dichos productos, como quemaduras, foto envejecimiento, carcinogénesis, etc. ⁴

Son formulaciones tópicas, que gracias a sus componentes son capaces de reflejar, dispersar o absorber la radiación UV, la Regulación de la Unión Europea 1223/2009] – [Reglamento de Cosméticos, define los filtros UV como «Sustancias que están destinadas exclusiva o principalmente a proteger la piel contra cierta radiación UV absorbiendo, reflejando o dispersando la radiación UV».. Lo ideal en estos casos sería que el cosmético se mantuviera en su

mayoría sobre la superficie de la piel (con la mínima penetración transdérmica) aunque esto no siempre es así ⁴.

La reciente evidencia de la absorción sistémica tras la aplicación tópica ha aumentado la preocupación sobre la rentabilidad del balance riesgo-beneficio en estos productos de cuidado personal. La administración de drogas y alimentos de EEUU (FDA) ha remarcado la importancia de evaluar los ingredientes de los fotoprotectores, cuya absorción sea mayor de 0.5ng/ml, para cerciorar su seguridad ⁵.

Hay dos tipos de filtros UV: los físicos o minerales y los químicos.

Los filtros físicos son materiales inertes formados por partículas que actúan como barrera a la radiación UVB y UVA, reflejando dichos rayos y absorbiendo parte de ellos (provoca movilidad de electrones y transiciones de estados electrónicos) ³.

Se consideran más seguros ya que no penetran en la piel, ni se degradan al entrar en contacto con la radiación UV, teniendo una mayor eficacia comprobada contra el daño sobre la piel inducido por los rayos UV ³.

El motivo por el que estos filtros no son los preferidos en cosmética, se debe a su baja aceptabilidad en estas formulaciones, ya que debido a su gran índice de refracción puede dar una apariencia más blanquecina a la piel y a su vez, facilitan la generación de especies reactivas de oxígeno, que pueden aumentar la inestabilidad de los fotoprotectores ⁴.

Los filtros químicos, en cambio, absorben la luz ultravioleta. Son moléculas orgánicas capaces de absorber UVA y UVB, radiaciones de alto rango. Estas moléculas tienen uno o varios anillos de benceno que se pueden conjugar con grupos carbonilo. Se clasifican en función de su estructura química, de esta forma vemos distintos grupos: derivados de alcanfor, de benzofenona, de triazidina, salicilatos, etc. Los filtros UV tienen un carácter hidrofílico o lipofílico y la mayoría de ellos se indican como resistentes al agua ⁵.

Con el fin de salvaguardar la salud de los consumidores, los filtros UV que se pueden utilizar en cosméticos y las concentraciones máximas permitidas de

estos están muy reguladas por cada país. En la unión europea se permiten 29 filtros, en concentraciones de entre el 2 y el 25%. (solo dos de los 29 filtros son minerales). La absorción dérmica de estas sustancias puede provocar efectos negativos sobre las personas que utilicen estos cosméticos, dando lugar a: dermatitis, problemas endocrinos, mutagénicos, etc. ⁶

2.3 Benzofenonas

En esta revisión bibliográfica nos centraremos las benzofenonas (BPs). Se trata de un filtro ultravioleta (UV) que se incluye en multitud de cosméticos, la encontramos sobre todo en fotoprotectores, pero también la podemos encontrar en labiales, productos para el cabello, para las uñas, etc.

Aunque su utilización principal sea como filtro UV en fotoprotectoras la encontramos también fuera de los cosméticos en el día a día, ya que se ha observado en el medio ambiente, en alimentos, agua potable, fragancias o en el aire.

Las benzofenonas se han detectado en múltiples fluidos humanos, tales como: sangre, orina, leche materna, líquido amniótico y otros, estas dos últimas preocupan mayormente por cómo pueden afectar al feto este componente, y en general como podrían afectar al resto de órganos. Aunque no está claro si su presencia a nivel sistémico puede provocar algún riesgo a nivel sanitario ⁵.

Estos componentes no solo preocupan cuando se encuentran a nivel sistémico, ya que se han descrito múltiples casos de dermatitis alérgica de contacto. Muchos de estos casos se creían alergia al sol, pero tras realizar pruebas dérmicas (prueba del parche o del fotoparche) se observó que una alta tasa de las dermatitis era a causa de componentes de los fotoprotectores, entre los tres causantes mayoritarios se encontraba la BP3 ⁷.

Se estima que entre un 2 y un 4% de las consultas dermatológicas se debe a dermatitis de contacto causadas por cosméticos, aunque esta no es la prevalencia real, ya que los eccemas leves o que no causan problemas, nunca

llegan a consultarse con un especialista y se solucionan únicamente evitando el cosmético que se cree problemático ^{8,9}.

Más del 15% de los usuarios, sufren como reacción adversa más frecuente a los fotoprotectores, reacciones irritativas. Las benzofenonas, en especial la BP3, son las sustancias fotoprotectoras que provocan principalmente sensibilización. Mientras que a día de hoy no se han descrito alergias de contacto frente a filtros físicos, como pueden ser el óxido de cinc o el dióxido de titanio ⁸.

Los problemas asociados a estos componentes no son solo a nivel humano, también provocan distintos problemas sobre los ecosistemas, sobre todo los marinos, ya que restos de fotoprotectores quedan en el agua cuando los bañistas entran en contacto con esta. Zonas como Hawái o Florida han prohibido la venta de fotoprotectores con oxibenzona (benzofenona 3 (BP3)) u octinoxatos, por la amenaza que conllevan hacia los ecosistemas marinos ⁵.

Las benzofenonas (estructura química Ilustración 1 Estructura química Benzofenona. Fuente Fisher scientific ¹⁰ Propiedades Tabla 1 Propiedades de la BP. Fuente Fisher scientific ¹⁰) es una familia de filtros de las más utilizadas y está incluida en el grupo de fotoprotectores químicos, ya que se tratan de cetonas aromáticas. Son moléculas capaces de absorber los rayos UV, protegiendo de esta forma la piel de las radiaciones solares. Se pueden observar distintas moléculas con propiedades ligeramente diferentes (todas absorben la radiación UVB, pero, por ejemplo, la BP3 y la BP4 absorben también la radiación UVA) ¹¹.

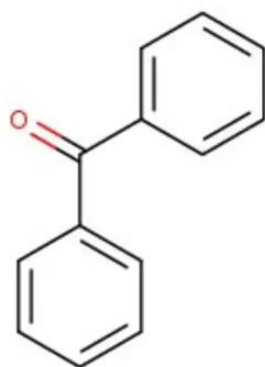


Ilustración 1 Estructura química Benzofenona. Fuente Fisher scientific ¹⁰.

Tabla 1 Propiedades de la BP. Fuente Fisher scientific ¹⁰.

Nombre	Fórmula molecular	Peso molecular	Nombre IUPAC
Benzofenona	C ₁₃ H ₁₀ O	182.222 g/mol	Difenilmetanona
Densidad	Punto de fusión	Punto de ebullición	Solubilidad
1.111g/mL	50°C	305°C	Soluble en etanol y dietil eter e insoluble en agua

La BP3 es la más utilizada y la agencia europea de sustancias químicas (ECHA) considera, para evitar la fotodegradación en revestimientos de superficies de plástico, envases para alimentos, elementos electrónicos o de construcción, muebles, tintas, etc. el uso de su potencial estabilizador UV ¹².

La benzofenona y sus derivados se encuentran en la naturaleza, en plantas con flores, tales como, el mango o la uva moscatel, pero se sintetizan para usarlas en productos comerciales, como los nombrados anteriormente. La BP3 se sintetizó por primera vez en 1906 y la FDA aprobó que esta fuera utilizada en fotoprotectores en 1980 ⁹.

A día de hoy debido a la reciente preocupación que ha desencadenado, distintos países la han puesto en el punto de mira. La FDA ha priorizado este compuesto entre otros filtros UV para revisar su seguridad ¹².

En Europa la BP3 se incluyó en la lista del plan de acción móvil comunitario (CoRAP) de la ECHA debido a la posible alteración a nivel endocrino que podría provocar esta sustancia. El contenido permitido de BP3 se ha reducido notablemente en un 40%, pasando del 10% al 6% en los fotoprotectores y con una concentración máxima del 0.5% en cosméticos desde 2017 ¹².

En 2018, la Unión Europea solicitó al comité científico de Seguridad de los Consumidores (SCCS) un dictamen científico acerca de la seguridad de la BP3,

finalmente, en 2021 se concluyó que la BP3 al 6% como filtro UV en los fotoprotectores no era seguro para los consumidores. También en 2018 la Comisión Europea incluyó en la lista prioritaria de posibles disruptores endocrinos la BP1 ¹².

Las benzofenonas más utilizadas son la BP3, BP4, BP8 y BP10, es por esto por lo que son las benzofenonas más estudiadas y de las que se dispone de más información. Las benzofenonas 8 y 10 han sido utilizadas en cosméticos, pero no se encuentra literatura de que estas provoquen reacciones adversas, de tipo dermatitis alérgicas de contacto.

Por el contrario, la BP4 (Estructura química Ilustración 3 Benzofenona 4. ¹¹) ha sido evaluada y si se considera como un desencadenante de alergias de contacto, al igual que la BP3 (Estructura química Ilustración 2 Benzofenona 3. ¹¹) que es el principal causante de estas reacciones, provocando aproximadamente el 70% de los casos ¹³.

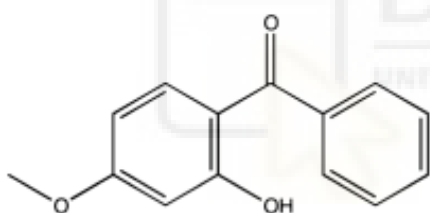


Ilustración 2 Benzofenona 3. ¹¹

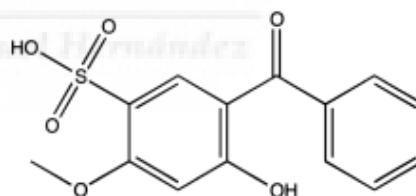


Ilustración 3 Benzofenona 4. ¹¹

3. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es estudiar la toxicidad y las reacciones adversas de las benzofenonas utilizadas en cosmética, con el fin de analizar los posibles riesgos para la población que conllevan estas sustancias, mediante una revisión bibliográfica de los artículos recuperados tras una búsqueda en distintas bases de datos científicas.

4. Materiales y métodos.

4.1 Diseño.

Se ha realizado una revisión bibliográfica de artículos publicados tanto en lengua española como inglesa, sobre la toxicidad y efectos adversos de las benzofenonas en cosmética.

4.2 Fuente de obtención de datos.

La información se obtuvo mediante la consulta directa y acceso, vía internet, a la base de datos Medline (a través de Pubmed), base de datos bibliográfica del ámbito de ciencias de la salud.

4.3 Tratamiento de la información.

Se seleccionaron las siguientes palabras claves: cosmética, benzofenonas, toxicidad y reacciones adversas.

Para obtener los términos Mesh, que posteriormente serían incluidos en la búsqueda. Se consultaron las palabras clave seleccionadas en la base de datos DeCS (descriptores de ciencias de la salud) para convertirlas en descriptores, evitando de esta manera, palabras similares pero con un significado diferente, obteniendo: "Cosmetics", "Benzophenones/toxicity" y

”Benzophenones/adverse effects”, como términos Mesh, que junto a la utilización de los operadores booleanos AND y OR, dio lugar a la siguiente ecuación de búsqueda: (“Cosmetics”[Mesh]) AND ((“Benzophenones/ toxicity”[Mesh] OR “Benzophenones/adverse effects”[Mesh])).

Se aplicaron ciertos criterios a la ecuación mencionada anteriormente introduciéndose los siguientes filtros: humanos y artículos desde 2013. De esta forma se recogen los textos en lo que la especie principal fuera la humana y los textos publicados después de dicho año, quedándonos así con los publicados en los últimos 10 años. Nos encontramos en un campo donde la información se actualiza en breves periodos de tiempo, lo que conlleva una rápida obsolescencia de la información.

Por lo que la **ecuación final** de la búsqueda, con los filtros, quedó de la siguiente manera: (“Cosmetics”[Mesh]) AND ((“Benzophenones/ toxicity”[Mesh] OR “Benzophenones/adverse effects”[Mesh])) Filters: Humans, from 2013 – 2023. La búsqueda se realizó en marzo de 2023.

4.4 Selección final de los artículos.

Tras la búsqueda se aplicaron los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión:

- Texto original en el que se haya llevado a cabo una revisión por pares.
- Texto acorde al objetivo del trabajo.
- Textos con una antigüedad inferior a 10 años.
- Textos que estén destinados la especie humana.

Criterios de exclusión:

- Texto redactado en su totalidad en una lengua distinta a la española o la inglesa.
- Texto completo no disponible para su lectura.

5. Resultados.

Una vez aplicados los criterios de la búsqueda, fueron recuperados en Medline los siguientes artículos: 176 de los que se descartaron 65 al no ajustarse al filtro de humanos, se admitieron tanto ensayos *in vivo* como *in vitro*, 10 al no tratarse de artículos originales, 57 al haber sido publicados en una fecha anterior a 2013. Tras la lectura de su resumen: 13 fueron rechazados por no ajustarse al objetivo o centrarse en una especie distinta a la humana y 2 al no encontrar su resumen. Por último, 16 artículos se rechazaron al concretar el objetivo debido a la gran cantidad de información y a la diversidad de esta (Tabla 2 Clasificación de artículos por reacción adversa y cosmético en el que se encuentra) 1 se descartó al no poder recuperar el texto completo y 6 se descartaron ya que, tras su lectura completa no se ajustaban al objetivo final o carecían de evidencia.

De esta forma se incluyeron finalmente para la revisión sistemática, un total de 5 artículos (Ilustración 4 Diagrama de flujo: selección de artículos).

Tabla 2 Clasificación de artículos por reacción adversa y cosmético en el que se encuentra

Toxicidad / Reacción adversa	Cosmético	Artículos recuperados
Reacciones cutáneas	Protectores / productos de cuidado personal / Filtros UV	13
Endometriosis	Productos de cuidado personal	1
Daño ADN / genotoxicidad	Productos de cuidado personal / Filtros UV	4
Riesgos para la salud	Protectores solares	4
Alteraciones endocrinas	Filtros UV	1
Alteraciones reproductivas	Filtros UV	4
Reacciones obesogénicas	Filtros UV	1
Alteraciones sanguíneas	Filtros UV	1

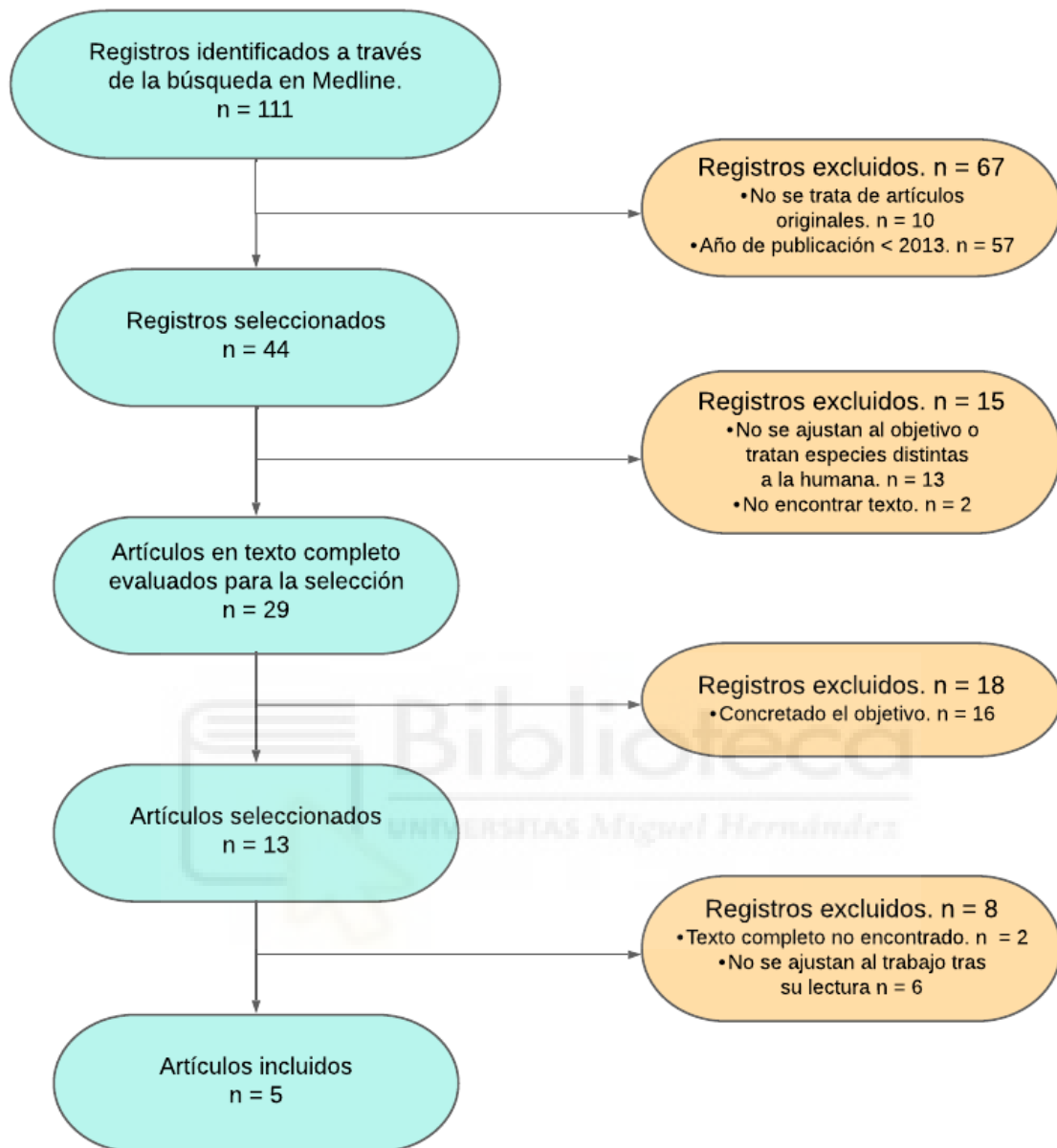


Ilustración 4 Diagrama de flujo: selección de artículos

Tabla 3 Resultados

Autor, año	Diseño	País	N	Resultados	Conclusión
Russo JP, et al. 2018	Estudio observacional de corte transversal	Argentina	35	De los 35 pacientes, se observaron 8 pacientes con reacciones positivas a la prueba del fotoparche. Donde la oxibenzona fue positiva en 5.	Se considera necesario el estudio permanente de la fotosensibilidad en particular en aquellas personas que muestran intolerancia a los protectores solares.
Erin M. Warshaw, et al. 2013	Análisis transversal	Estados unidos	23.908	219 pacientes tenían un protector solar codificado como fuente de alergia. Las zonas más afectadas fueron la cara y zonas expuestas y entre los 3 alérgenos más frecuentes se encontraba la BP3	Es importante, para detectar la alergia a los protectores solares, una serie suplementaria de antígenos.

Subiare-Ferrer D, et al. 2018	Análisis retrospectivo	España	116	<p>La principal causa de reacciones positivas al fotoparche fueron a antiinflamatorios tópicos y los absorbentes de uv fueron la segunda categoría (BP3, de los dos alérgenos más frecuentes).</p> <p>Más reacciones a la prueba del fotoparche que a la del parche.</p>	Se presentó mayor experiencia clínica que el ensayo modelo con unos resultados similares reafirmando la utilidad de esta serie.
Lidian Xiong , et al. 2019	Evaluación <i>in vitro</i>	China	<i>In vitro</i>	<p>Medición de las tres líneas celulares expuestas a la irradiación UVA y UVB. Evaluación de la fototoxicidad de CPZ en los tres sistemas celulares bajo exposición UVA y UVB. Medición de la exposición de BP-1, 3 y 4 en los tres</p>	Es difícil determinar un potencial fototóxico muy débil como el de las benzofenonas <i>in vitro</i> . Los métodos establecidos pueden utilizarse para comprobar la fototoxicidad de los componentes

				sistemas celulares bajo irradiación UVA y UVB. Predicción de la toxicidad.	químicos, en el caso de las sustancias que no requieran activación metabólica.
Ji-Seok H, et al. 2019	Evaluación <i>in vitro</i>	Corea	<i>In vitro</i>	Efectos de los productos de ensayo en la viabilidad de los tejidos mediante ensayo MTT. Evaluación histomorfologica de la piel. Marcadores bioquímicos de diferenciación/proliferación epidérmica Liberación celular de IL-1 ^a . Evaluación exhaustiva comparativa.	La administración de oxibenzona de forma conjunta con DEET indujeron irritación en el modelo utilizado.

6. Discusión

En esta revisión bibliográfica, tras un exhaustivo análisis de los 5 artículos seleccionados, se realizó un estudio comparativo para obtener conclusiones con evidencia basadas en estudios fiables y aceptados.

A la hora de medir las reacciones alérgicas como la dermatitis, lo estudiado en este caso; se puede hacer de dos maneras similares, mediante la prueba del parche y la del fotoparche. Por un lado, la prueba del parche consiste en depositar una muestra del alérgeno y observar las reacciones que se producen. Por otro lado, la prueba del fotoparche sigue el mismo procedimiento que la prueba del parche, pero por duplicado irradiando con rayos UV una de las dos muestras.

En primer lugar, el estudio de Subiabre-Ferrer D, et al.¹⁴ Realizado en el hospital general de Valencia, Comunidad Valenciana, España. El estudio se desarrolló entre mayo y diciembre de 2014 y 2016 respectivamente. En él se llevó a cabo un análisis retrospectivo de 116 pacientes, evaluados con la prueba europea del fotoparche, realizada según la metodología del consenso europeo. Los parches se aplicaron, por duplicado, en la parte media de la espalda con Finn Chambers (cámaras redondas de 8mm de diámetro con papel de filtro incorporado, son cámaras abiertas que facilitan la carga del alérgeno).

Los alérgenos utilizados procedían de la serie europea de fotoparche. A las 24 horas los preparados se retiraron y mientras que una se protegió de la luz, la otra fue expuesta a rayos UVA. Se realizaron dos lecturas, la primera en el día 2 al retirar los parches una vez aplicada la radiación y la segunda, en el día 4, es decir, dos días después de la primera.

Las reacciones positivas a esta prueba se evaluaron en función de distintos conceptos, siendo estos los antecedentes de los pacientes, la presencia del alérgeno en la lista de ingredientes de los productos utilizados por los pacientes en las zonas donde se desencadenó la dermatitis que dio lugar a la prueba del fotoparche, localizaciones de dermatitis anteriores (relevancia

pasada) y que los alérgenos encontrados en las pruebas de fotoparche no parezcan estar relacionados con dermatitis previas.

Todos los pacientes fueron comparados con la serie de referencia del Grupo Español de Investigación en Dermatitis de Contacto y Alergia Cutánea (GEIDAC)

De los 116 pacientes estudiados 80 eran mujeres y 36 hombres con una edad media de 55,9 años en un intervalo desde los 18 a los 93. El 26,7% de los pacientes (31) tuvieron como mínimo una reacción positiva, siendo la mediana 2,4 reacciones por paciente y el 41,9% tuvieron 3 o más reacciones positivas, obteniendo un total de 76 reacciones positivas.

De las 76 reacciones obtenidas el 72,3% (55) fueron observadas al realizar la prueba del fotoparche, mientras que las 21 reacciones restantes se observaron positivas a la prueba del parche. Los filtros orgánicos de radiación UV fueron la segunda causa más frecuente de las reacciones positivas a la prueba del fotoparche, siendo la BP3 y el octocrileno los agentes que dieron lugar a más reacciones positivas en esta prueba. Como primer causante encontramos algunos AINEs y por detrás de los filtros químicos y otros fármacos como el fenofibrato o la clorpromazina (Tabla 4 Alérgenos más frecuentes.)

Tabla 4 Alérgenos más frecuentes.

Allergen	Positive photopatch test reactions	Positive patch test reactions
Ketoprofen	16	1
Dexketoprofen	16	1
Etofenamate	7	6
Fenofibrate	6	0
Diclofenac	2	2
Benzophenone-3	2	2
Benzophenone-10	2	0
Chlorpromazine	2	0
Octocrylene	1	1
Triclosan	1	0
Fragrance mix I	0	4
Decyl glucoside	0	2
Butyl methoxydibenzoylmethane	0	1
4-Methylbenzylidene camphor	0	1

El análisis de relevancia clínica mostro que más de la mitad (51.3%) de las reacciones positivas eran de relevancia actual, frente a un 27.6% que se trataban de relevancia pasada y el 21,1% de relevancia incierta.

En las reacciones con relevancia actual encontramos un 56,9% de los pacientes con reacciones positivas a los dos principales causantes de estas reacciones, los aines y a los filtros UV, siendo los aines los más frecuentes.

Diez pacientes del estudio sufrieron 12 reacciones positivas a los absorbentes de UV, siendo como ya mencionamos antes, los segundos alérgenos más frecuentes del estudio. En este caos observamos más reacciones positivas a la prueba del parche que a la del fotoparche (60% frente al 40%). El agente que provocó más reacciones positivas fue la BP3, hasta en cuatro pacientes. Siete de los diez pacientes anteriores mostraron cosensibilizaciones principalmente a los AINE.

En este estudio se indica que, hasta donde se sabe, este representa la mayor experiencia clínica con la serie de referencia de la prueba del fotoparche europea. Se obtuvieron resultados similares, donde la mayoría de las reacciones fueron a causa de AINEs, sugiriendo que el ketoprofeno puede ser un potente fotoalérgeno y que junto al dexketoprofeno mostraron cosensibilización con los filtros UV químicos como la BP3 y el octocrileno.

Las autoridades han tenido en cuenta estos hallazgos y han llevado a cabo distintas medidas como la regulación de los AINEs tópicos, o los fabricantes de protectores solares que limitaron el uso de BP3 y octocrileno en sus productos por su relación con las reacciones provocadas, sobre todo en individuos sensibilizados con el ketoprofeno.

Tanto la BP3 como el octocrileno, dieron lugar a reacciones alérgicas con más frecuencia de lo que, hasta el momento, se había informado. La BP3, en la mayoría de los casos, está ligada a la fotosensibilidad del ketoprofeno. Una posibilidad que encontramos tras el estudio es que suceda lo contrario, pero esta hipótesis debe ser investigada más a fondo. Cabe destacar que ninguno de los filtros orgánicos nuevos provocó reacciones adversas.

La BP3, junto al octocrileno y al ketoprofeno provocaron que las reacciones al fenofibrato fueran de relevancia incierta debido a la cosensibilización de estos, considerándose de esta forma, la reacciones al fenofibrato reacciones cruzadas.

En el estudio se llega a la conclusión de que los resultados obtenidos concuerdan con los publicados y destacan la utilidad de la serie de referencia europea de la prueba del fotoparche.

El siguiente estudio del análisis realizado por Xiong L, et al. ¹⁵ Se desarrolló en china en el West China Hospital, universidad de Sichuan. En él se utilizaron los siguientes productos químicos y materiales. BP1 (pureza 99%), BP3 (pureza 98%), BP4 (pureza > 97%) sodio dodecyl sulfato (SDS pureza > 99%), clorhidrato de clorpromazina (CPZ), suero fetal bovino (FBS), kit-8 de recuento celular (CCK-8), tampón fosfato (PBS), DMEM, solución de penicilina y estreptomicina, tripsina (0,25%) dimetilsulfóxido (DMSO). El dispositivo UVA Bio-Sun, instrumento de irradiación UVB y BIO RED Model 680 Microplate Reader.

A nivel celular, las líneas de fibroblastos Balb/c 3T3 se adquirieron del banco de celular de Kunming de la academia china de ciencias, que se cultivaron en DMEM, suplementado con un 10% de FBS, 100U/mL de penicilina y 100 mcg/ml de estreptomicina. Las líneas celulares de fibroblastos humanos HS68 se obtuvieron de la American Type Culture Collection y se cultivaron en DMEM, con un 10% de FBS, 100U/mL de penicilina y 100 mcg/ml de estreptomicina. Las líneas celulares de queratinocitos humanos HaCaT se obtuvieron del banco de células de Kunming de la Academia China de Ciencias y se cultivaron en DMEM, con un 10% de FBS, 10ng/ml de HKGS (factor de crecimiento de queratinocitos humanos), 100U/mL de penicilina y 100 mcg/ml de estreptomicina.

Respecto a la preparación de los materiales del ensayo, como las benzofenonas tienen una solubilidad limitada en agua, se seleccionó como disolvente el DMSO, siguiendo las recomendaciones de la OECD.2004 (Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico). Se prepararon a

1M y usando DMSO, las soluciones madre de BP1, BP3, BP4, SDS y CPZ. Para la realización del ensayo los productos químicos se diluyeron en PBS, de esta forma se alcanzaron concentraciones de 0,1-500 mcg/mL en PBS, es decir, la máxima concentración de DMSO que resultó segura para las células. Las soluciones finales con concentración de 500, 100, 50, 10, 5, 1, 0,5 y 0,1 se prepararon en PBS. Todos los materiales de ensayo fueron preparados justo antes de su uso.

El procedimiento del ensayo se divide en 4 partes, ensayos de fototoxicidad en 3T3, ensayos de fototoxicidad de HS68, ensayos de fototoxicidad en HaCaT y el análisis estadístico.

En primer lugar, los ensayos de fototoxicidad en 3T3, el cultivo de células se llevó a cabo según lo descrito por la OECD, siendo ajustado a las condiciones reales. Las células se colocaron en placas de 96 pocillos a una densidad de siembra de 104 células por pocillo. Al principio se preparó una suspensión celular de 105 células/ml en el medio de cultivo, y se sembraron en los 60 pocillos centrales de la placa 100 μ l de la suspensión. En los pocillos restantes se añadieron 100 μ l de medio de cultivo (sin células). Las células se cultivaron en la placa durante 24h.

En segundo lugar, los ensayos de fototoxicidad de HS68, donde las células se cultivaron en las mismas placas que en el apartado anterior a una densidad de 8×10^3 células por pocillo y se cultivaron durante 24h y se siguió el mismo procedimiento que en el apartado anterior.

El último ensayo fue de la toxicidad en HaCaT. Se transfirieron a placas de 96 pocillos las células HaCaT, a una densidad de siembra de 104 células por pocillo y se cultivaron durante 24 horas a 37 grados centígrados en un 5% de CO₂ y se siguieron los mismos pasos que en el primer apartado.

Llegados a este punto se realizó un análisis estadístico, en él se empleó el software Phototox, disponible en la OECD, se utilizó para calcular el factor de foto irritación (FPI) y efecto fotográfico medio (MPE) y para el análisis

concentración-respuesta por FPI y MPE. Cada material detectado se analizó tres veces en ensayos dependientes.

Nos encontramos distintas situaciones dependiendo del resultado obtenido de la siguiente ecuación (Ecuación 1 Ecuación del PIF). Si PIF es < 2, se trata de un producto no fototóxico, si $2 < PIF < 5$ probable fototóxico, si $PIF > 5$ estamos antes un producto fototóxico. Cuando el IC50 no se puede obtener, el MPE se calcula mediante la siguiente ecuación (Ecuación 2 Ecuación del MP3). Donde nos encontramos las mismas situaciones respectivamente, es decir, $MPE < 0,1$ producto no fototóxico, $0,1 < MPE < 0,15$ probable fototóxico y $MPE > 0,15$ producto fototóxico. Los resultados de obtuvieron tras calcular al menos dos experimentos independientes.

$$PIF = \frac{IC50(UV-)}{IC50(UV+)}$$

Ecuación 1 Ecuación del PIF

$$MPE = \frac{\sum_{i=1}^n w_i PE_{ci}}{\sum_{i=1}^n w_i}$$

Ecuación 2 Ecuación del MP3

Respecto a la predicción de la fototoxicidad, todos los cálculos de DFT se realizaron con el paquete de programas DMol3 de Materials Studio (Delley, 1990, 2000; Perdew et al. 1996). La brecha de energía (EGAP) se define como $EGAP = E(LUMO) - E(HOM)$. Por lo tanto, cuanto más positivo sea el valor mayor será EGAP. Los parámetros electrónicos de una molécula se ven muy afectados por su flexibilidad conformacional. Se utilizaron tres moléculas para explorar la relación en la forma de la campana entre fototoxicidad y EGAP (las más reactivas, es decir, las que presentaban mayor EGAP).

Llegados a este punto se procedió a la medición de las tres líneas celulares expuestas a la radiación UVA y UVB.

En primer lugar, se comprobó si ambas radiaciones afectaban a la proliferación en las líneas celulares de piel humana (HS68 y HaCaT) y en la línea células de ratón Balb/c 3T3, se tomaron imágenes de las células, en presencia y ausencia de radiación UV y estas imágenes dieron información cualitativa sobre el efecto global de la radiación UV en las células.

Se realizó el ensayo CCK-8 para investigar la viabilidad celular tanto bajo condiciones de exposición como de no exposición UVA/UVB. Cuando las células

3T3 se expusieron a ambas radiaciones la viabilidad de estas células disminuyó significativamente a un 56,25% en el caso de la radiación UVA y a un 61,39% en la radiación UVB, en comparación con el control sin exposición. Mientras que la tasa de supervivencia relativa de las células HS68 disminuyó al 68,22% y al 81,20% respectivamente y la viabilidad de las células HaCaT disminuyó al 82,5% y al 67% también respectivamente.

Se realizó la medida de la exposición de la BP1, BP3 y BP4. En los tres sistemas celulares bajo irradiación UVA y UVB. Se obtuvieron las curvas de viabilidad celular con o sin radiación UVA/UVB y se calcularon los valores FPI y MPE, en comparación con los grupos no irradiados, en los expuestos a BP1 irradiados con UVA se observó una mayor citotoxicidad significativa a dosis más bajas. Los valores de FPI se estimaron mayores 2,0 y los valores de MPE fueron superiores a 0,1 en tres grupos celulares, T3, HS68 y HaCaT, identificándose la BP1 como fototóxica o probable fototóxico.

Sin embargo, en el control positivo los valores fueron bajos e inciertos. En cambio, los valores de FPI y MPE de la BP1 bajo radiación UVB se calcularon en menor a 2 y menor a 0,15 respectivamente. BP3 y BP4 demostraron no ser fototóxicas en condiciones UVA+ ya que se calculó para los valores FPI y MPE, menor a 2 y menor a 0,15 respectivamente.

De esta forma se identificó a la BP1 como una molécula fototóxica en condiciones UVA+ mientras que la BP3 y la BP4 se determinaron como moléculas no fototóxicas en las mismas condiciones. Además, las tres moléculas, BP1, BP3 y BP4, se clasificaron como sustancias químicas de bajo riesgo en condiciones UVB+.

Predicción de la fototoxicidad. Para ilustrar mejor el mecanismo potencial de la fototoxicidad asociada a estas tres sustancias (BP1, BP3 y BP4), utilizamos principalmente los cálculos teóricos. Según el informe (Ringeissen et al., 2011), sabemos que cuanto mayor es el EGAP, más reactiva es la sustancia. Se utilizaron los orbitales HOMO y LUMO, para calcular el valor de EGAP. A partir de los resultados, el EGAP de BP1 fue mayor que el de BP3 y mucho mayor

que la de BP4, y podríamos especular que la fototoxicidad de la BP-1 era mayor que la de la BP3 y la BP4.

Resumiendo, los resultados obtenidos a partir del ensayo OECD 432, encontramos en estos algunos escenarios divergentes. Los sistemas de ensayo para la predicción de la fototoxicidad UVB. Los filtros solares orgánicos, por lo general, nos protegen absorbiendo las radiaciones UVA y UVB ambiental, por lo que necesitamos una estrategia de ensayo integrada para predecir la fototoxicidad que implique ambas radiaciones.

La prueba 3T3 NRU (ensayo que proporciona una estimación cuantitativa del número de células viables en un cultivo, en este caso de células 3T3. DOI: 10.1038/nprot.2008.75) tiene muchas limitaciones, como por ejemplo que la prueba muestra una alta sensibilidad, pero una baja capacidad predictiva específica.

Recientemente la preocupación por la fototoxicidad química va en aumento y la mayoría de los filtros UV utilizados en los fotoprotectores, cuando la piel se expone a radiación UV, generan radicales libres de oxígeno (ROS).

Los filtros UV orgánicos también se denominan sustancias de absorción ultravioleta, las benzofenonas ofrecen fotoprotección, pero, a su vez, pueden provocar fototoxicidad. Las benzofenonas contienen cromóforos que al ser absorbidos y desencadenar fenómenos fotofísicos y fotoquímicos, pueden conllevar un daño directo o indirecto en las macromoléculas orgánicas.

Cuando la benzofenona absorbe las radiaciones ejerce su función fotoprotectora, pero al ocurrir esto la molécula se activa a niveles de energía más altos y cuando la molécula vuelve a su estado basal de energía, esta se libera en forma de energía térmica. La cascada de fotosensibilización puede implicar la transferencia de energía o electrones, o la activación del oxígeno molecular, que en última instancia produce reacciones oxidativas.

Llegados a este punto se configuró el modelo mecanicista utilizando el paquete de programas DMol3 de Materials Studios y se demostró que los

resultados de cálculo del modelo eran similares a los resultados experimentales. La EGAP de la BP1 fue superior a la de la BP3 y muy superior a la de la BP4.

Esa puede ser otra limitación de la prueba celular. El ensayo *in vitro* sólo se emplea para la identificación de peligros, mientras que su utilidad para la evaluación de la potencia fototóxica no está garantizada. En particular, este sistema de ensayo carece de actividad metabólica, lo que es fundamental en la manifestación de sustancias químicas expuestas a nivel sistémico.

Se ha informado que la BP3 se metaboliza en BP1 principalmente, mediante actividades metabólicas de las enzimas del citocromo P450. También se informó de otros hallazgos, tales como: formación de enlaces de hidrógeno intramoleculares, fotoisomerización reversible y enlaces conjugados en casi todos los filtros UV.

La fototoxicidad de las benzofenonas, sin embargo, esta mucho menos establecida y por este motivo debería caracterizarse y comprenderse de forma correcta mediante varios métodos.

Como conclusión en este artículo se demostró la eficacia de las benzofenonas como filtros UV, realizando ensayos de viabilidad celular en diferentes líneas celulares expuestas a ambas radiaciones. Es difícil determinar un potencial fototóxico muy débil en la piel humana a partir de ensayos *in vitro*.

En este estudio la BP1 pareció ser un fototóxico en situaciones de exposición UVA, pero ni la BP3 ni la BP4 resultaron ser fototóxicos en estas condiciones de exposición. Se verificó que ninguna de las sustancias anteriores acarrea riesgo frente a exposición UVB. El cálculo teórico mostró que la BP1 sería más reactiva que la BP3, que a su vez sería más reactiva que la BP4.

Los métodos establecidos pueden utilizarse para comprobar la fototoxicidad de los componentes químicos. En el caso de las sustancias químicas expuestas sistémicamente se recomiendan estrategias de ensayo más integradas y este estudio podría proporcionar una mejor elección a los formuladores de cosméticos a la hora de seleccionar los filtros UV en sus

productos. Por lo que a nivel de seguridad y eficacia se recomienda la BP4 frente a BP1 o BP3 en las formulaciones de fotoprotectores.

La investigación de Warshaw EM, et al.⁷ Fue el tercer artículo seleccionado en esta revisión, se trata de un análisis transversal de los pacientes sometidos a la prueba de parche por el Grupo Norteamericano de Dermatitis de Contacto (NACDG) entre 2001 y 2010. 23.908 pacientes fueron sometidos a esta prueba por el NACDG, 219 de ellos tenían un fotoprotector codificado como fuente de alergia o una reacción alérgica a la BP3. Las zonas más comúnmente afectadas fueron la cara y zonas expuestas. Los pacientes varones con dermatitis ocupacional o de más edad presentaron tasas significativamente más bajas de reacciones alérgicas a los protectores solares.

La BP3 fue el alérgeno más frecuente en los fotoprotectores con un 64,4% y 70,2% para concentraciones al 3% y al 10% respectivamente. La serie estándar de prueba del parche constaba de entre 65 y 70 alérgenos. Los datos recogidos de la base de datos incluían información demográfica, localización de la dermatitis, diagnóstico y resultados de las pruebas epicutáneas de antígenos específicos, que incluían relevancia clínica (definitiva, probable, posible o pasada), ocupacional (sí, no) y la fuente de exposición.

Allergen	Allergic Reactions, n (%) [*]	Clinical Relevance			
		Definite	Probable	Possible	Past
Benzophenone-3 (10% or 3% pet)	82/124 (66.1)	18 (22.0)	38 (46.3)	24 (29.3)	2 (2.4)
Benzophenone-3 10% pet	26/37 (70.2)	5 (19.2)	11 (42.3)	9 (34.6)	1 (3.8)
Benzophenone-3 3% pet	56/87 (64.4)	13 (23.2)	27 (48.2)	15 (26.8)	1 (1.8)

La relevancia clínica se definió como definitiva (se verifico que el resultado de una prueba del parche positiva o una prueba de uso con el objeto o producto sospechosos contenía el alérgeno), probable (se pudo verificar que el alérgeno estaba presente en contactos cutáneos conocidos y la presentación clínica era coherente), posible (la exposición incluía productos que probablemente contenían el alérgeno) y pasada (la exposición pasada incluían productos que podían contener el alérgeno). Solo se registró una fuente por alérgeno por lo que

solo se incluyeron los fotoprotectores que se consideraban la fuente primaria de las benzofenonas.

La BP3 es el único filtro UV de la serie de cribado del NACDG durante el periodo de estudio, de 2001 a 2009 la BP3 se probó al 3% y de 2009 a 2010 al 10%.

Respecto al análisis de datos, antes de introducir los datos en una base de datos informatizada se comprobó la calidad de estos. Los datos de los pacientes alérgicos a los protectores solares se compraron con los de los que no lo eran y el cálculo del riesgo relativo se calculó con intervalos de confianza utilizando el software Statical Analysis System; institute Inc, Carry, NC. Para un valor de P inferior o igual a 0,05 se consideró estadísticamente significativo.

De los 219 pacientes que tuvieron reacciones alérgicas asociadas a una fuente de fotoprotección, 85 (38,9%) solo tuvieron reacciones a un alérgeno del cribado, 95 (43,4%) solo a un alérgeno fuera del cribado y 39 (17,7%) tuvieron reacción a ambos.

Las características que fueron estadísticamente significativas fueron inferiores en los pacientes alérgicos a los protectores solares en comparación con los pacientes no alérgicos. De las 12 localizaciones principales de la dermatitis, la afectación de la cara y las zonas expuestas fue mayor de manera estadísticamente significativa en los pacientes alérgicos a los fotoprotectores en comparación con los no alérgicos, mientras que la distribución generalizada dispersa o la afectación de manos o piernas fue menor. El diagnóstico final más frecuente en los pacientes alérgicos a lo fotoprotectores solares fue dermatitis alérgica de contacto, en un 59,4% de los casos.

El alérgeno más común fue la BP3, seguido de fragancias, conservantes etc. Casi todas las reacciones fueron clínicamente relevantes para la dermatitis actual del paciente. Los fotoprotectores, los productos de cuidado personal, las cremas hidratantes, los cosméticos y las barras de labios, fueron los principales causantes debidos a la BP3.

En este estudio en Norteamérica se identificaron varios hallazgos claves, tras explorar la prevalencia de los fotoprotectores como fuente de reacciones alérgicas y dermatitis. En primer lugar, la tasa de reacciones a los fotoprotectores fue baja (0,9%). En segundo lugar, el 61,2% de los pacientes alérgicos a los fotoprotectoras tenían al menos un alérgeno no NACDG responsable de una reacción al protector solar (aquí se remarca la importancia de complementar con alérgenos adicionales las series de cribado NACDG). La BP3 arrojó un índice de detección mayor al encontrarse al 10% que cuando estaba al 3%, pero esto no fue estadísticamente significativo.

La BP3 como ya se ha comentado, fue el alérgeno más común en la serie de cribado de NACDG, este fue el único producto químico activo de protección solar en el estudio. Estudios anteriores no han evaluado específicamente las tasas de alergia a la BP3 por el uso de fotoprotectores, sino las tasas de prevalencia en general.

En un estudio en la clínica Mayo, participaron 182 pacientes, sometidos a la prueba del parche durante 6 años, el 1,7% de todos los pacientes tuvieron una reacción positiva a la BP3 (al 3%).

En este estudio se demostró que la BP3, a pesar de ser un ingrediente activo de los fotoprotectores, también está presente en una amplia gama de cosméticos y productos de cuidado personal, que también pueden ser fuentes importantes de reacciones (Tabla 5 Productos y frecuencia de reacciones).

Tabla 5 Productos y frecuencia de reacciones

Allergen	Sources	Frequency, n (%)
		n = 173*
Benzophenone-3 (3%)	Sunscreens	86 (49.7)
	Personal care products, not otherwise specified	28 (16.2)
	Moisturizers, lotions, creams	10 (5.8)
	Cosmetics	10 (5.8)
	Lipsticks	5 (2.9)
	Makeup	2 (1.2)
	Shampoos	1 (0.6)
	Solvents, oils, lubricants, fuels	1 (0.6)
	Unknown	30 (17.3)

*Total number of benzophenone-3 sources.

Los filtros UV también los podemos encontrar en esmaltes de uñas, productos para el cabello, etc. con el fin de proteger de la degradación parte de sus productos y muchos consumidores desconocen su presencia en estos artículos. Por lo que puede que haya una infravaloración de las dermatitis causadas por benzofenonas debido a este desconocimiento.

Llegados a este punto comentamos ciertas limitaciones del estudio, tales como: la imposibilidad de determinar relaciones causales al tratarse de un estudio transversal, los resultados proceden de una población terciaria lo que puede conllevar que no sean representativos, la ausencia de registro e información de los alérgenos que no estaban incluidos en el cribado NACDG, la infra notificación al codificar una única fuente de alérgeno para cada alérgeno, el requerimiento de un estudio detallado de relevancia de los alérgenos y por último que los resultados de las pruebas de fotoalergia y fotoparche no se incluyen en estos datos.

El cuarto artículo seleccionado para este trabajo realizado por Russo JP, et al. ¹⁶ Se desarrolló en el Centro de investigación de Hospital Público San Martín, en la ciudad de La Plata, durante los años 2015 y 2016. Se trata de un estudio descriptivo de corte transversal, con el objetivo de conocer el porcentaje de pacientes con fotosensibilidad afectados con fotoalergia a oxibenzona (BP3).

445 pacientes fueron observados en el servicio de dermatología del hospital San Martín en La Plata, de ellos se seleccionaron 35 pacientes entre 15 y 75 años que habían presentado uno o más brotes de reacciones fotosensibles.

Los pacientes cumplían tanto los criterios de inclusión como de exclusión. Criterios de inclusión: con erupciones cutáneas fotosensibles, con intolerancia a protectores solares, cosméticos, fragancias y analgésicos locales, con eccemas de contacto en áreas foto expuestas y con diagnóstico de fotodermatitis idiopática, dermatitis actínica crónica, etc. Como criterios de exclusión, pacientes con fotosensibilidad asociada a patologías sistémicas, pacientes con medicación

inmunosupresora o que hubieran usado esteroides tópicos en su espalda en el último mes.

Se utilizaron dos dispositivos, uno de irradiación construido para la aplicación de radiación UVA, que consiste en una estructura hermética y una lámpara UVA de la marca Philips. Se midieron los espectros de emisión de ambas lámparas con un espectrofotómetro llegando a la conclusión de que son necesarios 18 minutos para alcanzar la radiación necesaria, que en este caso es de $5\text{J}/\text{cm}^2$.

Para la técnica del fotoparche se utilizó la batería de fotoparche europea extendida del Laboratorio Chemotechnique, que abarca 34 alérgenos (19 se encuentran en los fotoprotectores) y parches IQ Ultimate. El procedimiento se realizó en una zona que por lo general no está expuesta al sol. Se colocaron dos parches epicutáneos uno a cada lado de la espalda, con fotoalérgenos diluidos en vaselina, a la concentración protocolizada por el Comité Europeo de fotoparche.

A los dos días de la colocación un parche del par se irradió y se leyeron a los 30 minutos tras la irradiación, por primera vez. Por segunda a las 96 horas de la colocación y, por último, a la semana. Para valorar los resultados se utilizó la escala de graduación propuesta por el Grupos Internacional de Investigación de las Dermatitis de Contacto.

De los 35 pacientes seleccionados, 11 eran hombres, frente a 24 mujeres (37% y 63% respectivamente). Estos se encontraban entre los 20 y los 72 años, siendo el 85% mayores de 45 años. Se observaron 8 pacientes con reacciones positivas a la prueba del fotoparche, 6 de ellos con dermatitis por contacto fotoalérgica (DCFA) siendo 4 de ellos a BP3 y ninguno al octocrileno. También se observaron otras reacciones entre las que se encontraba la BP10, que dio lugar a reacción foto alérgica en dos pacientes, con relevancia actual conocida.

De los 8 pacientes uno presentó dermatitis alérgica de contacto (DAC) a la BP3. Dos de los pacientes presentaron tanto DAC como DCFA, ambas provocadas por los protectores solares.

En los 8 pacientes hubo al menos una reacción con relevancia conocida, 7 pacientes por alérgenos de los protectores solares y uno por psicofármacos.

Por otro lado, el fenofibrato se presentó como reacción cruzada con la BP3 en un paciente con fotoalergia a su filtro solar. La BP3 fue positiva en 5 pacientes, 4 de ellos con DCFA y solo uno con DAC, pero que además tuvo alergia a la BP10 y etil hexil salicilato. En estos 5 pacientes la relevancia fue conocida ya que había BP3 en los protectores solares utilizados.

En este estudio se obtuvo como resultado un 17,14% de DCFA, 6 de 35 pacientes estudiados con fotosensibilidad durante 2 años (2015-16). La BP3 fue el filtro orgánico de radiación UVA que causó más frecuentemente DCFA, observándose en 5 de los 6 casos: 4 fueron reacciones fotoalérgicas y una dermatitis de contacto, teniendo todos relevancia conocida frente al uso de fotoprotectores.

Se contempla aumentar la fotoeducación, aumentando el conocimiento de los filtros UV orgánicos. Tratando el balance riesgo-beneficio de la BP3, se estudia la recomendación de usar otros filtros UV, sobre todo en embarazadas, lactantes y niños.

Los resultados obtenidos en este estudio sobre la fotoalergia de la BP3 son proporcionales a los expuestos en Colombia. Se considera necesario el estudio permanente de la fotosensibilidad, en particular a las personas que muestren intolerancias a los fotoprotectores, lo que permitirá preservar la salud de los pacientes a la vez que mantendrá actualizada la información sobre la afectación de nuevos productos.

En el quinto y último artículo seleccionado, investigación de Han JS, et al.
¹⁷ Se trata de un estudio *in vitro* para evaluar la irritación cutánea mediante EpiDerm (es un sistema equivalente de modelo epidérmico humano reconstruido en 3D (RhE)) para actualizar la información sobre la toxicidad de la BP3 y la N,N-dietil-m-toluamida (DEET) (en este trabajo nos centraremos en la parte de la BP3)

El modelo Epi Derm fue proporcionado por MatTek Corporation (EEUU). Este modelo está basado en queratinocitos humanos altamente diferenciados. Cada lote se produce mediante procesos documentados y validado que se libera siguiendo un riguroso control de calidad basado en las directrices de buena práctica.

Los productos de ensayo BP3 y DEET se adquirieron en Sigma-Aldrich Corp (EEUU) y se evaluaron en el ensayo de irritación cutánea. Se utilizó una solución salina tamponada con fosfato (DPBS) de Quality biological (EEUU) como control negativo y dodecil sulfato sódico al 5% como producto químico de referencia irritante de la piel, es decir control positivo, para confirmar la calidad de los lotes de tejidos.

Para evaluar la irritación cutánea de los productos de ensayo se utilizó el protocolo EpiDerm aprobado en la directrices OECD y el protocolo proporcionado por MatTek Corporation. El día anterior al tratamiento de los tejidos se cultivaron en placas estériles 6 pocillos que contenían 0,9 ml de medio de ensayo a base de medio Eagle modificado por Dubelcco y se incubaron a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ y $5\pm 1\%$ de CO_2 , al 95% de humedad relativa.

El día de la exposición cada tejido se refrescó con el medio de ensayo y los controles positivo y negativo, tres se analizaron mediante el ensayo MTT y uno se evaluó histológicamente. Se aplicaron 30 μl o 25 μg de BP3 o DEET respectivamente a cada muestra durante 60 minutos incluyendo un tiempo de incubación de 35 minutos. También se aplicó una administración combinada y secuencial a un volumen total de 15 μl , 12,5 μg o ambos.

Los tejidos se expusieron a la BP3 15 min en la incubadora y 15 min en la campana estéril, durante la primera mitad de los 60 minutos y después de forma similar se expusieron al DEET. Tras un lavado uniforme, cada tejido se colocó en una nueva placa de seis pocillos que contenía medio de ensayo fresco y se incubó 42h.

En el ensayo de viabilidad celular MTT se determinó la viabilidad tisular usando el podemos EpiDerm basado en la conversión enzimática del MTT. Tras

la extracción de células viables para confirmar su interferencia con el punto final del MTT se mezclaron BP3 y DEET con agua desionizada respectivamente y se mantuvieron durante 60 minutos en condiciones de cultivo estándar.

Tras confirmar que no había cambio de color, se mezclaron otra BP3 y DEET con MTT respectivamente durante 60 minutos en condiciones estándar de cultivo. Tampoco se observó ningún cambio por lo que se aseguró que no era necesario ningún procedimiento de corrección.

Para el ensayo de viabilidad celular, tras exponer los tejidos 42 h, se transfirieron tres de cada elemento de ensayo a placas de 24 pocillos que contenían 0,3 mL de MTT (1 mg/mL) y se incubaron 3 h. Después, se lavó cada tejido con DPBS y se extrajo el formazán (producto cromogénico artificial) con 2 mL de isopropanol durante 2 h adicionales en un agitador de placas.

A continuación, se transfirieron dos alícuotas (200 IL) por muestra de tejido de la solución de formazán púrpura a una placa de micro titulación de fondo plano de 96 pocillos y se midió la densidad óptica a 570 nm utilizando un lector de microplacas de ensayo inmunoenzimático (ELISA) sin utilizar un filtro de referencia.

El análisis de interleucina IL-1^a se realizó mediante un kit ELISA y las muestras tras la exposición al producto del ensayo se cuantificaron por duplicado según las indicaciones del kit.

Para el análisis histológico, al final del periodo de incubación, tras la exposición las muestras EpiDerm se fijaron en formol neutro al 10%, se embebieron en parafina, se seleccionaron, se tiñeron con hematoxilina y eosina y se examinaron al microscopio. Para identificar la expresión de CK14, CK10, cadherina-E, etc. se realizó una tinción ICH.

Tras la desparafinización e hidratación de las secciones de parafina se procedió a la recuperación de antígenos utilizados. Se enjuagaron los portaobjetos con una mezcla de disolución salina tamponada con tris y Triton-X100 y se incubaron en suero a 25°C +-1 durante 1h para eliminar la unión

específica. Se evaluó el grosor de cada capa epidérmica y se obtuvieron las imágenes de los tejidos mediante sistemas informáticos.

Se analizaron los resultados del ensayo de viabilidad MTT de forma estadística de los tejidos tratados con BP3 y DEET y se expresaron como porcentajes de la absorbancia media del control negativo. También se analizaron los datos de viabilidad tisular, liberación de citoquinas y grosor epidérmico.

Como resultados de este estudio podemos observar la gráfica inferior (Ilustración 5 BP3/DEET/ambos/ control negativo) donde podemos ver la viabilidad tisular medida tras el tratamiento con DEET, BP3 o ambos y los porcentajes fueron 1,9 y 97,8% respectivamente. La administración combinada demostró una viabilidad tisular de 84% y 19% por lo que se determinó que el DEET y la combinación eran irritantes según el ensayo (viabilidad tisular del control positivo fue del 1,6%).

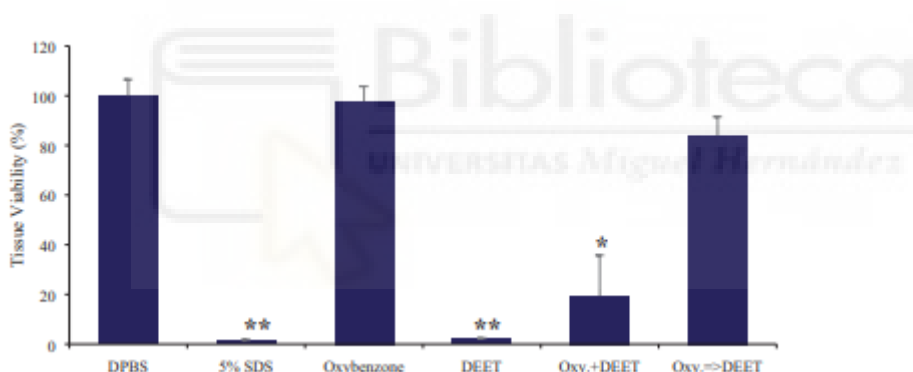


Ilustración 5 BP3/DEET/ambos/ control negativo

En este estudio se determinó que la BP3 no era irritante, lo que no concuerda con la categoría del Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos, ya que la BP3 está clasificada como irritante cutáneo.

El modelo empleado consta de algunas limitaciones ya que solo está formado de queratinocitos, por lo tanto, no es adecuado para la evaluación de efectos a nivel sistémico.

Por lo que en conclusión en este último artículo y debido a la falta de concordancias con la realidad conocida sobre la irritabilidad de las BP3, marca la necesidad de apoyarse en más estudios *in vivo* con oxibenzona para validar este sistema de ensayo.

7. Conclusiones

Teniendo en cuenta todo lo analizado a lo largo del trabajo podemos afirmar que las benzofenonas, en especial la BP3, es un potencial fotoalérgico y que haría falta una educación social sobre ellas para ayudar a la población a identificar las posibles reacciones adversas, no solo a nivel fotoalérgico, ya que se estima que solo se documentan entre el 2% y el 4% de estas.

También hay que destacar la necesidad de un mayor número de ensayos *in vivo* para aumentar el conocimiento de estas reacciones adversas, ya que al realizar ensayos *in vitro* los resultados no son concluyentes ni realistas, al carecer de la acción sistémica que pueden tener estos componentes en la población.

Tras la realización de esta revisión bibliográfica, cabe remarcar la necesidad de más estudios que aumenten el conocimiento sobre los posibles riesgos de estas sustancias y de esta forma, disminuir ciertos problemas en la población.

8. Bibliografía

1. Bohórquez-Ballén J, Pérez Mogollón JF. Radiación ultravioleta. *Ciencia & Tecnología para la Salud Visual y Ocular*. 1 de diciembre de 2007;(9):97.
2. González-Muñoz P, Conde-Salazar L, Vañó-Galván S. Dermatitis alérgica de contacto a cosméticos. *Actas Dermosifiliogr*. noviembre de 2014;105(9):822-32.
3. Chaiyabutr C, Sukakul T, Kumpangsin T, Bunyavaree M, Charoenpipatsin N, Wongdama S, et al. Ultraviolet filters in sunscreens and cosmetic products—A market survey. *Contact Dermatitis*. 1 de julio de 2021;85(1):58-68.
4. Seixas VC, Serra OA. Stability of sunscreens containing CePO₄: Proposal for a new inorganic UV filter. *Molecules*. 2014;19(7):9907-25.
5. Suh S, Pham C, Smith J, Mesinkovska NA. The banned sunscreen ingredients and their impact on human health: a systematic review. Vol. 59, *International Journal of Dermatology*. Blackwell Publishing Ltd; 2020. p. 1033-42.
6. Szliszka E, Czuba ZP, Domino M, Mazur B, Zydowicz G, Krol W. Ethanol Extract of Propolis (EEP) Enhances the Apoptosis- Inducing Potential of TRAIL in Cancer Cells. *Molecules*. 13 de febrero de 2009;14(2):738-54.
7. Warshaw EM, Wang MZ, Maibach HI, Belsito D V., Zug KA, Taylor JS, et al. Patch test reactions associated with sunscreen products and the importance of testing to an expanded series: Retrospective analysis of North American Contact Dermatitis Group data, 2001 to 2010. *Dermatitis*. julio de 2013;24(4):176-82.
8. González-Muñoz P, Conde-Salazar L, Vañó-Galván S. Dermatitis alérgica de contacto a cosméticos. *Actas Dermosifiliogr*. noviembre de 2014;105(9):822-32.
9. González-Muñoz P, Conde-Salazar L, Vañó-Galván S. Dermatitis alérgica de contacto a cosméticos. *Actas Dermosifiliogr*. noviembre de 2014;105(9):822-32.
10. Benzofenona, 99 %, Thermo Scientific Chemicals | Fisher Scientific [Internet]. [citado 20 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.fishersci.es/shop/products/benzophenone-99-thermo-scientific/11479612>
11. Heurung AR, Raju SI, Warshaw EM. Benzophenones. *Dermatitis*. 2014;25(1):3-10.

12. Mustieles V, Balogh RK, Axelstad M, Montazeri P, Márquez S, Vrijheid M, et al. Benzophenone-3: Comprehensive review of the toxicological and human evidence with meta-analysis of human biomonitoring studies. Vol. 173, Environment International. Elsevier Ltd; 2023.
13. Benzofenonas Alergeno del año 2014 – PIEL-L Latinoamericana [Internet]. [citado 20 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://piel-l.org/blog/34998>
14. Subiabre-Ferrer D, Esteve-Martínez A, Blasco-Encinas R, Sierra-Talamantes C, Pérez-Ferriols A, Zaragoza-Ninet V. European photopatch test baseline series: A 3-year experience. Contact Dermatitis. 1 de enero de 2019;80(1):5-8.
15. Xiong L, Tang J, Li Y, Li L. Phototoxic risk assessment on benzophenone UV filters: In vitro assessment and a theoretical model. Toxicology in Vitro. 1 de octubre de 2019;60:180-6.
16. Russo JP, Ipiña A, Palazzolo JF, Cannavó AB, Piacentini RD, Niklasson B. Photoallergic Contact Dermatitis to Sunscreens Containing Oxybenzone in La Plata, Argentina. Actas Dermosifiliogr. 1 de julio de 2018;109(6):521-8.
17. Han JS, Kim YB, Park H, Im WJ, Kim WJ, Kim Y, et al. In vitro skin irritation assessment using EpiDerm™: applicability for updating toxicity information of oxybenzone and N,N-diethyl-m-toluamide. Drug Chem Toxicol. 3 de julio de 2020;43(4):361-8.