
Evaluación de una formulación antioxidante y estimuladora mitocondrial en piel de pacientes con vitiligo vulgar estable.

Janeth Elizabeth Rojas-Urdaneta¹ y Abel Gustavo Poleo-Romero².

¹Departamento de Salud Pública, Núcleo Aragua, Maracay y ²Departamento Clínico Integral de Los Llanos, Núcleo Cojedes, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. Venezuela. Correo electrónico: rujaneth@yahoo.com

Palabras clave: Antioxidantes, estrés oxidativo, melanocito, vitiligo, toxicidad mitocondrial, tratamiento antiviteligo.

Resumen. El vitiligo es una enfermedad crónica, despigmentante de la piel, de carácter progresivo y adquirido, con etiología aún desconocida. Existen diversos tratamientos en el mundo, pero hasta ahora ninguno ha sido totalmente efectivo. El objetivo de este trabajo fue evaluar la aplicación de una formulación antioxidante y estimulante mitocondrial de uso tópico, en zonas leucodérmicas de pacientes con vitiligo vulgar estable. Se realizó un ensayo clínico, experimental, aleatorizado y doble ciego en 100 pacientes con vitiligo vulgar estable, 50 varones y 50 mujeres, distribuidos en cinco grupos, a saber: Grupo 1 (etiquetado como VitilVenz AF): Aplicación de crema antioxidante y estimulante mitocondrial e ingestión oral de antioxidantes y fenilalanina. Grupo 2 (etiquetado como Placebo AF): Aplicación de crema con placebo e ingestión oral de antioxidantes y fenilalanina. Grupo 3 (etiquetado como sin crema AF): Ingestión oral de antioxidantes y fenilalanina. Grupo 4 (etiquetado como crema Placebo): Aplicación de crema placebo. Grupo 5: (etiquetado como Vitilvenz): Aplicación de crema antioxidante y estimulante mitocondrial. En todos los pacientes se midieron: la zona clínica de pigmento formado cada 30 días y durante cinco meses y la presencia de melanocitos en el estudio histológico al inicio del estudio y al final del tratamiento. Para el análisis de los resultados se utilizó la prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer. El mejor esquema de tratamiento y que produjo mejores resultados fue el del grupo 1 basado en la ingestión de antioxidantes y fenilalanina conjuntamente con la aplicación de la crema antioxidante y estimulante mitocondrial ($p < 0,001$), seguido por el grupo 5 que recibió tratamiento tópico con la crema antioxidante y estimulante mitocondrial. La respuesta clínica e histológica de estos dos grupos (1 y 5) fue significativamente diferente al resto de los grupos 2, 3 y 4. Podemos concluir que los melanocitos podrían encontrarse en un estado disfuncional, producto de la formación de radicales libres que ocasionan

toxicidad mitocondrial y celular; los radicales libres son removidos por los antioxidantes y estimulantes mitocondriales de la crema logrando que el mismo vuelva a funcionar produciendo la melanina en el área acrómica del vitiligo, potenciándose este efecto con el uso de la fenilalanina y antioxidantes orales.

Evaluation of an antioxidant and mitochondrial stimulating cream formula in the skin of patients with stable vulgar vitiligo.

Invest Clín 2007; 48(1): 21 - 31

Key words: Anti-oxidant, oxidative stress, melanocyte, vitiligo, antioxidant mitochondrial, antivitaligo treatment.

Abstract. Vitiligo is a chronic illness of a yet unknown etiology, characterized by an acquired and progressive depigmentation of the skin. There are diverse treatments for this condition around the world, but up to now, none has been completely effective. The objective of this work was to evaluate the application of an antioxidant and mitochondrial stimulating formula, of topic use in leukodermic areas of patients with stable vulgar vitiligo. A clinical, experimental, randomized, double blind study was carried out in 50 male and 50 female patients with stable vulgar vitiligo. The patients were distributed in five groups as follows: Group 1 (labelled as VitiVenz AF): application of antioxidant and mitochondrial stimulating cream and oral administration of antioxidants and phenylalanine. Group 2 (labelled as Placebo AF): application of a placebo cream and oral administration of antioxidants and phenylalanine. Group 3 (labelled as without cream AF): oral administration of antioxidants and phenylalanine. Group 4 (labelled as Placebo cream): application of a placebo cream. Group 5 (labelled as VitiVenz): application of the antioxidant and mitochondrial stimulating cream. The following were measured in all patients: the clinical area of newly formed pigment every 30 days, during five months; and the presence of melanocytes in the histological study, at the beginning and at the end of treatment. The test of multiple comparison of Turkey-Kramer was used for the analysis of the results. The scheme of treatment that produced the best results was that of the Group 1, which consisted of the joint application of the antioxidant and mitochondrial stimulating cream and oral administration of antioxidants and phenylalanine ($p < 0.001$); followed by Group 5 that only received the topical treatment with the antioxidant and mitochondrial stimulating cream. The clinical and histological responses of these two groups (1 and 5) were significantly different to the rest of the groups. We concluded that the melanocytes in these patients could be in a dysfunctional state, product of the formation of free radicals that cause cellular and mitochondrial toxicity; and that these free radicals are removed by the antioxidant and mitochondrial stimulating elements present in the cream, turning the melanocytes functional and producing melanin in the achromic area of the vitiligo. This effect would be potentiated by the use of oral antioxidants and phenylalanine.

Recibido: 09-09-2005. *Aceptado:* 08-06-2006.

INTRODUCCIÓN

El vitiligo es un trastorno adquirido e idiopático caracterizado por máculas despigmentadas y asintomáticas bien circunscritas, donde los melanocitos funcionantes desaparecen en la piel involucrada debido a un mecanismo aún no bien identificado (1). Su distribución es mundial, afectando todas las razas sin predilección de sexo, alcanzando alrededor del 1% y 2% de la población mundial (1, 2).

Su patogenia no está del todo bien definida, desconociéndose casi siempre la causa inicial, existiendo la posibilidad que exista más de una causa. Se han propuesto varias teorías para explicar la patogenia del vitiligo, sugiriendo que en el mismo intervienen factores predisponentes genéticos cuyo defecto permanece sin ser identificado (3). La hipótesis autoinmune o autodestructiva, neural, y bioquímica, intentan explicar por qué se destruye el sistema pigmentario de la piel; sin embargo, el mecanismo puede ser mucho más complejo de lo que se ha propuesto (4, 5).

En el ámbito mundial se le ha dado mayor importancia a los aspectos inmunológicos y de autodestrucción. Se sugiere la existencia de una aberración de la inmunovigilancia que produce destrucción, disfunción, o ambas, en los melanocitos (1). A favor de esta teoría destaca el hecho de que en el vitiligo se pueden dar, de manera conjunta, diversos trastornos autoinmunitarios (6, 7). Existe un acuerdo general en cuanto a la ausencia de melanocitos funcionales en la piel con vitiligo y que esta pérdida de melanocitos, histoquímicamente reconocible, es el resultado de su destrucción. Sin embargo, ha sido propuesta la posibilidad de que los melanocitos estén aun presentes en la piel con vitiligo, pero en un estado indiferenciado sin actividad melanogénica. De hecho, es poco usual observar evidencia ultraestructural de la destrucción del melano-

cito en piel con vitiligo. Un estudio demostró que el melanocito aun está presente en la piel despigmentada por vitiligo de larga duración (8). Esto puede significar que la destrucción de melanocitos es un lento proceso, resultado de una disminución progresiva del número de melanocitos.

Recientemente se ha propuesto que en la piel afectada por esta enfermedad existe un defecto bioquímico, acumulando pruebas que indican una asociación patogénica del vitiligo con el aumento del estrés oxidativo epidérmico, debido a un aumento de la enzima 4-alfa-hidroxitetrahidrobiopterina deshidratasa (un potente inhibidor de la fenilalanina-hidroxilasa). Su presencia excesiva en la epidermis bloquea la producción de L-tirosina y también la transcripción del gen de la tirosinasa. Es causante también de la producción exagerada de catecolaminas por los queratinocitos. El hecho de que las catecolaminas estén presentes en cantidades aumentadas sugiere que podrían participar en el mecanismo de lesión de los melanocitos (5). También se ha encontrado elevación de la actividad epidérmica de la monoamino-oxidasa A y posterior generación de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) que podría originar una molécula melanotóxica (9, 10). Esta teoría sugiere que los melanocitos no son destruidos, sino que son funcionalmente inactivados.

En función de estas observaciones han aparecido pruebas que la lesión peroxidativa de las células de la epidermis de pacientes con vitiligo podría ser un factor etiopatogénico importante en este trastorno de despigmentación, mientras que la reacción inmune observada sería un episodio secundario, debido directamente al estrés oxidativo (11). Es sabido, que en las mitocondrias, ocurre el proceso oxidativo celular y de formación de proteínas así como del procesamiento de varias otras funciones vitales que generan una gran cantidad de radicales libres que producen toxicidad mitocondrial,

ocasionando cambios en las mismas (10). Estos cambios, o mutaciones perturbarían el normal funcionamiento de la célula o causarían que dejen de funcionar. Al elevarse o disminuir las concentraciones fisiológicas de los radicales libres puede acarrear importantes alteraciones funcionales (12, 13). Gerschman (14) sugirió, por primera vez, que los radicales libres eran agentes tóxicos y generadores de enfermedades. Por la alta inestabilidad atómica de éstos, colisionan con una biomolécula y le sustraen un electrón, oxidándola, perdiendo de esta manera su función específica en la célula.

En un estudio comparativo se demostró que el estrés oxidativo está implicado en la fisiopatología del vitiligo, al encontrarse altos niveles de la actividad de la Superóxido Dismutasa (SOD) del eritrocito y del nitrito/nitrato del plasma (15). El hecho de que en vitiligo estén presentes melanocitos, bajo un estado indiferenciado sin actividad melanogénica, producto del estrés oxidativo mitocondrial, podría ser uno de los posibles mecanismos que estarían causando las alteraciones del funcionalismo en los melanocitos y producir la enfermedad.

Jeong y col. (16) demostraron que una combinación de agentes antioxidantes parecían prevenir el daño celular de una manera sinérgica ya que cada antioxidante posee una afinidad hacia un determinado radical libre o hacia varios, siendo necesario además, la incorporación al organismo de ciertos oligoelementos como el cobre, hierro, cinc, selenio y manganeso, entre otros, pues forman parte del núcleo activo de las enzimas antioxidantes (17). El uso de estos antioxidantes puede ser de importancia, ofreciendo un medio posible de tratar el vitiligo, ya que es indudable su relación con el estrés oxidativo ocurrido en el melanocito (16).

Por otro lado el aminoácido esencial Fenilalanina (Phe), ha sido ampliamente recomendado por ser absolutamente preciso

en el fenómeno de la melanogénesis cutánea, ya que se metaboliza, mediante hidroxilación, a tirosina, que después de varios procesos metabólicos da lugar a la melamina; parte de la Phe que se hidroxila a tirosina forma las catecolaminas (18, 19). La administración de L-Phe en personas con vitiligo, vía oral, aumenta la tolerancia a la luz solar en las placas hipopigmentadas, que normalmente tienden a la quemadura, y permite un buen bronceado de la piel normal (20, 21). La hipótesis de su actuación en el vitiligo sería que la L-Phe, o alguno de sus metabolitos, inhibirían la producción de anticuerpos citolíticos antimelanocitos, mientras que la exposición a los rayos solares estimularía la migración de melanocitos desde áreas adyacentes y activarían los melanocitos alterados, pero no destruidos de las leucodermas de vitiligo más recientes (20). Esta teoría se basa en la experiencia animal, donde se demostró que la L-Phe inhibía la síntesis de anticuerpos frente al toxoide de la difteria al alterar los aminoácidos libres del animal (22, 23).

También se ha demostrado que las células de Langerhans, tanto las activadas o HLA-DR+/T6+ como las no activadas o HLA-DR-/T6+, que están aumentadas en las manchas de vitiligo, se modifican después del tratamiento con fenilalanina UVA, aumentando las activadas y disminuyendo las no activadas (24, 25).

En este sentido y teniendo en cuenta lo anteriormente planteado, se realizó un estudio a doble ciego en personas con vitiligo vulgar estable con la finalidad de evaluar la aplicación de un producto natural en crema cuyo contenido es a base de estimulantes mitocondriales y antioxidantes celulares y el esquema terapéutico estuvo basado en la aplicación de la crema conjuntamente con la ingestión oral de antioxidantes y del aminoácido esencial fenilalanina. Los resultados de este estudio permitirían obtener una nueva alternativa de tratamiento para

esta estigmatizante enfermedad, además de contribuir a la evaluación de las diferentes teorías descritas como posibles causantes del vitiligo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un ensayo clínico, experimental, aleatorizado y de doble ciego. Al inicio del estudio, participó un observador independiente, quien fue el responsable de la distribución, a los participantes en el estudio, de la crema antioxidante y estimulante mitocondrial y de la crema placebo, en envases rotulados. Ninguno de los integrantes del equipo de trabajo sabía la identidad de las cremas, hasta el final del análisis de los resultados clínicos e histológicos.

La población estuvo constituida por 137 pacientes que acudieron a la consulta de vitiligo en el Hospital José Antonio Vargas del Instituto Venezolano de los Seguros Sociales (IVSS) en la ciudad de Maracay, estado Aragua, Venezuela y que tuvieron un diagnóstico de vitiligo vulgar estable con más de 3 años de evolución de la enfermedad; de esta población se escogió una muestra al azar por medio del procedimiento de aleatorización sin reemplazo de 100 participantes con 5% de error, 95% de confianza y un porcentaje estimado del 50%. Todos los participantes terminaron el estudio.

Al inicio del trabajo, se les explicó a todos los participantes en que consistía el estudio y se escogió una mancha o leucoderma en cada paciente, entre 5 y 10 cm de diámetro, de cualquier región del cuerpo expuesta (miembros, cara y cuello); se les expuso su grado de participación en el mismo entregándoseles una hoja contentiva de un consentimiento informado, por escrito, para su aceptación a participar en la investigación en presencia de dos testigos; así mismo se les llenó una historia clínica, siendo el estudio previamente aprobado por

el comité de ética del IVSS de la institución hospitalaria donde se realizó la investigación. La muestra escogida se distribuyó en 5 grupos con veinte pacientes cada grupo, por medio del procedimiento de aleatorización sin reemplazo y bajo los siguientes criterios:

Criterios de inclusión

1. Cursar con vitiligo vulgar estable: se seleccionaron pacientes con vitiligo vulgar ya que en este tipo de vitiligo las lesiones cubren zonas extensas de la superficie cutánea, lo cual sucede en el curso de muchos años y estable ya que estos pacientes han perdido la capacidad de continuar el fenómeno despigmentante.
2. Que no hubieran recibido tratamiento para vitiligo en los últimos cinco meses anteriores al estudio.
3. Edad comprendida entre 18 y 50 años
4. Cualquier sexo (masculino, femenino)
5. No presentar ninguna otra patología concomitante
6. Firmar el consentimiento informado para el estudio y autorizar el sometimiento a evaluaciones medicas periódicas.

Criterios de exclusión

1. Tener otra enfermedad concomitante demostrable.
2. Haber recibido otro tratamiento para vitiligo en los últimos 5 meses.
3. No cumplir con las indicaciones dadas para el estudio.

El tratamiento administrado consistió en lo siguiente:

Crema antioxidante y estimulante mitocondrial la cual es un producto natural cuyo principio activo es el extracto acuoso de *Vitillium*, un fenol vegetal con propiedades antioxidantes a una concentración de

1:1-100 mL y de extracto acuoso de *Cucumis melo* 1:2-100 mL que contiene enzimas SOD y Catalasa; Piridoxina 100 mg y Coenzima Q-10 100 mg, así como también hidratantes celulares y excipientes. Este producto ha sido evaluado toxicológicamente en conejos Nueva Zelanda con inocuidad comprobada sin efectos colaterales.

Las dosis administradas de los diferentes medicamentos fueron las siguientes:

- Aplicación tópica de una pequeña cantidad (3g) de crema antioxidante y estimulante mitocondrial, que denominaremos VitolVenz, en las manchas acrómicas, frotando suavemente hasta que el mismo se absorba por completo, dos veces al día (a las 7 am y 7 pm) durante cinco meses.
- Fenilalanina: 500 mg cada 12 horas por cinco meses.
- Antioxidantes: el complemento vitamínico y de oligoelementos, se suministró en una dosis diaria por cinco meses de un solo compuesto bajo la presentación de cápsulas:
 - Vitamina A (100% Caroteno), 20.000 UI.
 - Vitamina C (Acido Ascórbico), 1000 mg.
 - Vitamina E (Succinato d-Alfa Tocopherol), 400 UI
 - Zinc, 15 mg
 - Selenio, 50 mcg
 - Manganeso, 2 mg
 - Coenzima Q-10, 75 mcg
 - Picoenol, 1 mg

El placebo consistió en una crema base[®], sin ningún componente anexo.

Estudio clínico

Los pacientes, una vez seleccionados, se les asignaron los siguientes esquemas de tratamiento:

- Grupo 1 (etiquetado como VitolVenz AF): Aplicación de crema antioxidante y estimulante mitocondrial e ingestión oral de complemento vitamínico y fenilalanina.

- Grupo 2 (etiquetado como Placebo AF): Aplicación de crema con placebo e ingestión oral de complemento vitamínico y fenilalanina.
- Grupo 3 (etiquetado como sin crema AF): Ingestión oral de complemento vitamínico y fenilalanina.
- Grupo 4 (etiquetado como crema Placebo): Aplicación de crema placebo.
- Grupo 5: (etiquetado como VitolVenz) Aplicación crema antioxidante y estimulante mitocondrial.

A todos los pacientes se les realizó una evaluación clínica basada en la revisión mensual de las lesiones, durante cinco meses y una evaluación histológica al inicio y al final del estudio, con la finalidad de llevar un seguimiento y vigilancia de la evolución de las lesiones bajo tratamiento. En cada evaluación mensual, el procedimiento fue el siguiente:

- Vigilancia de las lesiones y medición del avance en la pigmentación: Esta actividad consistió en la realización de un dibujo en una hoja de acetato de las manchas acrómicas tratadas y la medición previa al tratamiento y posterior al tratamiento mensualmente con rejilla milimétrica; para ello se empleó una escala de medición, considerando como promedio los puntos clínicos de pigmentación según los siguientes parámetros: 0 puntos = ausencia de pigmento; 1 punto = pigmento hasta de 3 mm de extensión; 3 puntos = pigmento de 3,1 a 5 mm; 5 puntos = pigmento de 5,1 a 7 mm; 7 puntos = pigmento de 7,1 a 9 mm; 9 puntos = pigmento de 9,1 a 11 mm y 11 puntos = pigmento en más de 11 mm.
- Atención del cumplimiento del tratamiento oral y la aplicación de la crema: se evaluó la forma de aplicación de la crema en las lesiones escogidas para el estudio de acuerdo a las instrucciones dadas y la dosificación oral del

complemento vitamínico y del aminoácido fenilalanina.

- Búsqueda de signos y síntomas adversos: se evaluaron las lesiones tratadas haciendo hincapié en la aparición de irritación, dermatitis y otras reacciones adversas.
- Entrega de la cantidad correspondiente de envases etiquetados como Vitilvenz (crema antioxidante y estimuladora mitocondrial y del placebo) y del complemento vitamínico y de fenilalanina con las indicaciones de aplicación e ingestión de la dosificación diaria, respectivamente

Para el análisis histológico, se tomaron 200 biopsias de piel, obtenidas con sacabocado que correspondieron a 100 muestras al inicio del estudio y 100 muestras al final del tratamiento, fijadas en formol al 4%. Cada muestra fue de 1,5 mm de diámetro y fueron coloreadas con hematoxilina y eosina.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante el test de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer, utilizando el programa de Graph Pad InStat 3.0 y se representaron como promedio \pm desviación estándar (DE). El criterio para la significancia estadística fue de $p < 0,05$.

RESULTADOS

De los 5 grupos evaluados, el esquema de tratamiento que presentó mejor resultado fue el grupo 1 con un puntaje de 10,4 ($p < 0,001$) y el grupo 5 con 9,77 ($p < 0,001$). Los grupos 2 y 3 tuvieron mejores resultados que el 4 ($p < 0,05$); el grupo 5, tratados solo con crema antioxidante y estimuladora mitocondrial, obtuvo diferencias significativas en los resultados con respecto al grupo 4 etiquetado como placebo ($p < 0,01$) y, al comparar los grupos 1 y 5, se observaron también diferencias significativas entre ellos ($p < 0,01$).

De los 100 individuos estudiados ocho no presentaron ninguna respuesta durante los 5 meses de evaluación; todos pertenecían al grupo 4 que usaron crema placebo. Los otros participantes de este grupo, tuvieron una respuesta mínima con una media de 0,08 (Tabla I). En los grupos 1 y 5 a quienes se les aplicó la crema antioxidante y estimuladora mitocondrial, el 80% de los participantes comenzaron a repigmentar los primeros 10 días después del tratamiento, tornándose de color rosado, a la semana se volvió de color amarillo claro y al mes de tratamiento fue tomando su coloración normal de piel.

En ambos grupos, la pigmentación comenzó indistintamente, desde las orillas al centro, algunos presentaron puntos oscuros

TABLA I
PROMEDIO DE PUNTOS CLÍNICOS* DE PIGMENTACIÓN POR GRUPO EXPERIMENTAL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO

Grupo	Un mes Media \pm DE	Dos meses Media \pm DE	Tres meses Media \pm DE	Cuatro meses Media \pm DE	Quinto mes Media \pm DE
1	1,48 \pm 0,72	2,38 \pm 0,77	6,87 \pm 10,2	6,69 \pm 0,61	10,4 \pm 0,66
2	0,14 \pm 0,07	0,18 \pm 0,08	0,27 \pm 0,06	0,89 \pm 0,41	1,23 \pm 0,22
3	0,14 \pm 0,09	0,22 \pm 0,08	0,28 \pm 0,09	0,96 \pm 0,36	1,16 \pm 0,19
4	0,003 \pm 0,01	0,03 \pm 0,04	0,05 \pm 0,05	0,07 \pm 0,005	0,08 \pm 0,09
5	0,48 \pm 0,40	2,03 \pm 0,70	4,03 \pm 0,79	6,04 \pm 0,85	9,77 \pm 0,95

DE: Desviación Estándar. * Puntos clínicos descritos en materiales y métodos.

de pigmento distribuidas en toda la mácula que se unieron posteriormente y otros con un punto céntrico que fue creciendo hacia las orillas y de las orillas al centro. Lo más frecuentemente encontrado fue una repigmentación desde las orillas al centro, siendo las áreas más sensibles al tratamiento la cara y el cuello y la más tardía las manos. Cabe señalar que de tres participantes escogidas con mácula en el dorso de las manos, una de ellas pigmentó en un 60% durante el primer mes de tratamiento. En el resto de los grupos la pigmentación fue escasa y ésta apareció principalmente en las orillas.

Durante el primer mes de evaluación y tratamiento 38 pacientes, correspondientes a los grupos 1 y 5, tuvieron pigmentación en la zona acrómica seleccionada, y al quinto mes los 40 pacientes. El único efecto secundario observado durante el tratamiento fue la formación de un ligero acné acompañado de prurito local en un paciente del grupo 5 cuya área escogida fue la cara. El resto de los grupos evolucionaron sin efectos colaterales durante todo el estudio, de acuerdo al registro de datos llevado en las consultas de seguimiento.

En relación con la cantidad de pigmento clínico, la máxima puntuación se observó en el grupo 1 con $10,4 \pm 0,66$ puntos al término del estudio y en el grupo 5 con $9,77 \pm 0,95$ (Figs. 1a y b). Estas cifras representan más del 90% de la registrada en los grupos 2, 3 y 4 (Tabla I). La mínima puntuación se registró en el grupo 4, con $0,08 \pm 0,09$ puntos al término del estudio. En este último grupo, ocho pacientes no manifestaron respuesta alguna durante todo el tiempo de tratamiento. Al final del estudio, entre los grupos 2 y 3 se registraron cifras similares (Tabla I).

En el estudio histológico se observó que el grupo 4 se mantuvo sin cambios, mientras que en las biopsias de los grupos 1 y 5 si se visualizaron melanocitos al quinto mes de tratamiento en comparación con las

biopsias tomadas al inicio del tratamiento (Figs. 1c y d).

DISCUSIÓN

La formulación evaluada es científicamente bien tolerada, no es grasosa, se expande fácilmente y es de penetración rápida, observándose que los grupos que tuvieron mejores resultados clínicos fue el número 1 al cual se le aplicó la crema antioxidante y estimulante mitocondrial conjuntamente con antioxidantes orales y fenilalanina y el grupo 5 al cual se le aplicó solamente la crema antioxidante y estimulante mitocondrial. Las diferencias significativas encontradas entre estos dos grupos, demuestran que el efecto de la aplicación de la crema se ve potencializado con la ingestión de antioxidantes y fenilalanina. Antoniou y col. (21) tuvieron excelentes resultados en un estudio doble ciego usando fenilalanina oral y tópica observando que las personas con vitiligo pigmentaron y las personas con piel normal no presentaron modificaciones antes o durante el tratamiento con fenilalanina, considerando que este efecto estaría en relación con la actuación de fenilalanina sobre las máculas de vitiligo apoyando la teoría que la Phe inhibe la formación de anticuerpos y estimula los melanocitos (24, 25). Por otro lado, en cuanto a la ingestión de antioxidantes, Jeong y col. (16) encontraron que las combinaciones de antioxidantes previenen el daño celular y son efectivos para tratar el vitiligo, ya que este padecimiento pareciera estar relacionado con el estrés oxidativo en el melanocito.

No obstante, en estos dos grupos se observó homogeneidad en la repigmentación durante los cinco meses de evaluación, cuya respuesta clínica fue significativamente diferente a los grupos 2, 3 y 4. Esto se traduce en la efectividad del tratamiento con la crema antioxidante y estimulante mitocondrial.

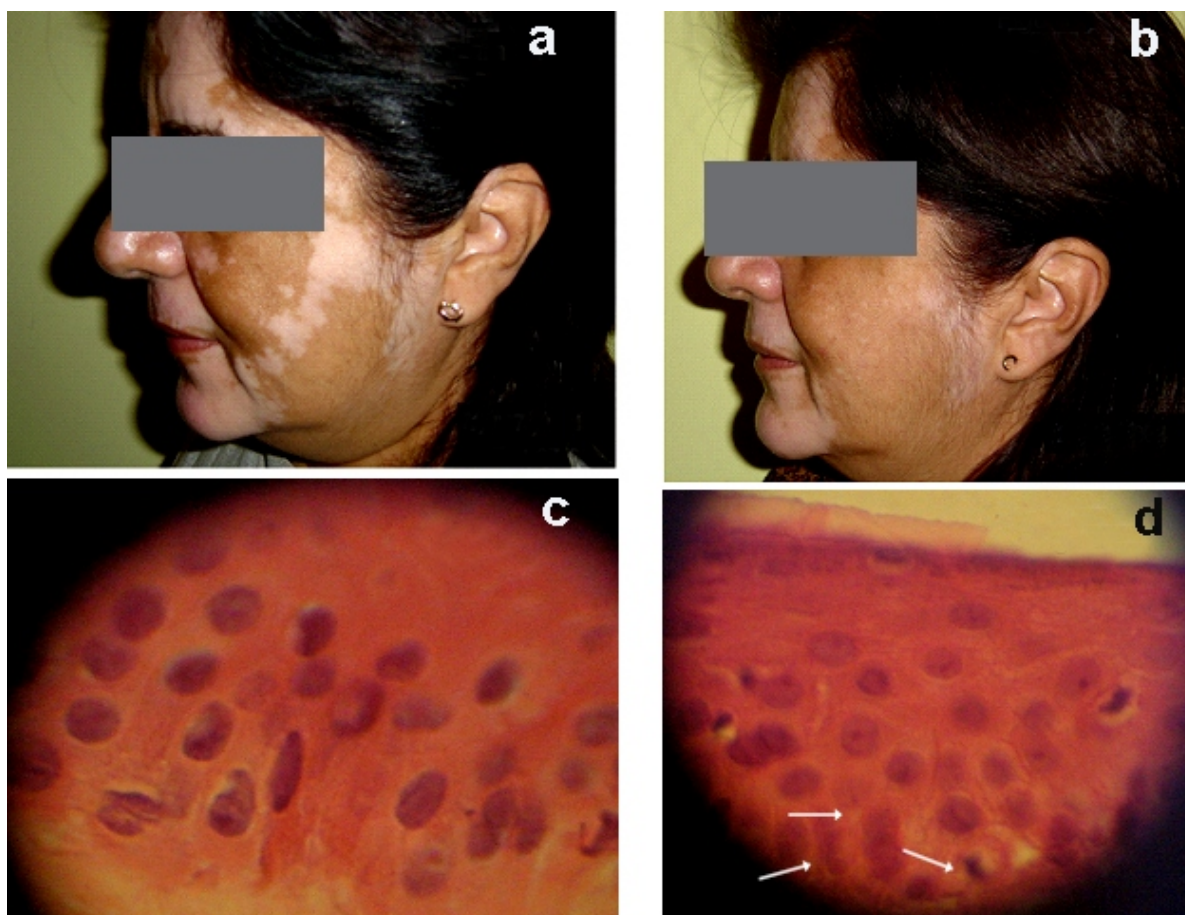


Fig. 1. (a y c). Aspecto clínico e imagen histológica de la paciente N° 07 del grupo 5 donde no se observan melanocitos al inicio del estudio, en el área escogida. Tinción hematoxilina y eosina 400X. (b y d). Aspecto clínico e imagen histológica de la misma paciente observándose pigmentación de la cara y presencia de melanocitos (color marrón amarillento claro, flechas) después del tratamiento. Tinción hematoxilina y eosina 400X.

Estos hallazgos favorecen la hipótesis que indica la existencia de una asociación patogénica del vitiligo con el aumento del estrés oxidativo epidérmico (5) donde la lesión peroxidativa de las células de la epidermis podría ser un factor etiopatogénico de este trastorno de despigmentación. Esto es debido a que durante el proceso de formación de proteínas así como del procesamiento de varias otras funciones vitales de las mitocondrias se producen una gran cantidad de radicales libres (26-28) que, unidos a los formados por otras noxas externas como el estrés, la exposición exagerada a los rayos solares, entre otros, pueden sobre-

pasar las defensas naturales, acumularse y producir la toxicidad mitocondrial perturbando el normal funcionamiento de la célula melanocítica y causar que dejen completamente de funcionar (10, 11). En este sentido, Hazneci y col. (15) encontraron niveles elevados de SOD del eritrocito y del nitrito/nitrato del plasma en pacientes con vitiligo, confirmando que el estrés oxidativo está implicado en la fisiopatología del vitiligo.

Por otro lado, la respuesta al tratamiento en los cinco grupos estudiados estuvo influida por el tiempo; es decir, que el pigmento clínico aumentó conforme se incrementó el tiempo de tratamiento; por lo

tanto, para observar una mejor respuesta, el tratamiento pudiera prolongarse más allá de los cinco meses.

Es importante mencionar que los grupos que recibieron la aplicación de la crema antioxidante y estimulante mitocondrial, con o sin tratamiento oral coadyuvante, formaron pigmento en áreas distantes a la mácula objeto del estudio. Esta respuesta puede sugerir que algunos de los componentes de la crema así como la ingestión de antioxidantes y fenilalanina que circulan en la sangre, inducen efectos a distancia. Para aclarar este aspecto se requiere de otros estudios correlativos clínicos y biomédicos, que permitan el diseño de esquemas de tratamiento para este tipo de pacientes.

Es importante mencionar, en relación con la exposición a la luz solar que, de acuerdo con los datos acumulados en la historia clínica y de seguimiento, todos los pacientes que participaron en el estudio continuaron con su vida normal, observándose una homogeneidad en el estilo de vida, grado y patrón de exposición a la luz solar. Es muy importante considerar esto, pues a los pacientes no se les dio indicación de exponerse al sol, ya que el aumento de melanocitos y del pigmento melánico se favorece de manera especial al utilizar PUVA sol y PUVA (29, 30). Los melanocitos, una vez regenerados producen melanina y participan en la transmisión de los gránulos de pigmento a los queratinocitos adyacentes (31). Esta actividad se inhibe al completarse la reparación (32).

En el estudio histológico se observó un hallazgo en todas las muestras tomadas al inicio del estudio en las manchas acrómicas de piel donde los núcleos de las células de la capa basal se encontraban rechazados hacia el área apical de la célula, desapareciendo este fenómeno después del tratamiento en los grupos 1 y 5. Esto podría deberse a reacciones de tipo inflamatorio en el área, o a depósitos de complejos inmunes que son

removidos por efecto del tratamiento, pudiendo ser corroborada esta situación en estudios posteriores.

Se puede concluir de acuerdo a los resultados obtenidos, que los melanocitos de piel con vitiligo, se encuentran en un estado disfuncional producto de la formación de radicales libres que ocasionan toxicidad en la célula; la aplicación de la crema antioxidante y estimulante mitocondrial parecería prevenir el daño celular que, combinado con los antioxidantes y el aminoácido esencial fenilalanina, potencian este efecto logrando que el melanocito se regenere y vuelva a funcionar produciendo melanina en el área acrómica de vitiligo, los cuales se estimulan de manera significativa, por lo que es posible seguir observando la formación de pigmento aún después de finalizado el tratamiento a los cinco meses de estudio.

REFERENCIAS

1. **Margasin SM.** Vitiligo. *Piet* 2000; 15:436-441.
2. **Seung-Kyung H.** Vitiligo. *Medicine Journal* 2001; 2(1):1-10.
3. **Zhang XJ, Chen JJ, Liu JB.** The genetic concept of vitiligo. *J Dermatol. Sci.* 2005; 39(3):137-146.
4. **Kovaes SO.** Vitiligo. *J Am Acad Dermatol* 1998; 38:647-666.
5. **Nordlund JJ, Majunder PP.** Investigaciones recientes sobre vitiligo vulgar. *Clínicas dermatológicas* 1997; 1:71-80.
6. **Buxton PK.** ABC de la dermatología. México: BMJ Latinoamérica, 1998. p. 105.
7. **Boisseau-Gargaud AM, Vezon G, Helenon R, Garsaud P, Saint-Cyr I, Quist D.** High prevalence of vitiligo in lepromatous leprosy. *Int Dermatol.* 2000; 39:837-839.
8. **Sánchez CI, España AA.** Role the Neuropeptides in dermatology. *Rev Neurol* 1997; 25(3):221-231
9. **Davis MD, Ribeiro P, Tipper J, Kaufman S.** 7-Tetrahydrobiopterin, a naturally occurring analogue of tetrahydrobiopterin, is a cofactor for and a potential inhibitor of

- the aromatic amino acid hydroxylases. *Poc Natl. Acad Sci USA* 1992; 89:10108-10113.
10. **Schallreuter KU, Wood JM, Pittelkow MR.** Increased monoamine oxidase A activity in the epidermis of patients with vitiligo. *Arch Dermatol Res* 1996; 288(1): 14-18.
 11. **Stark JM.** Immunological adjuvance of metabolic origin: oxidative stress, postulated impaired function of thiol proteases and immunogenicity. *Scand J Immunol* 1998; 48:475-479.
 12. **Freeman BA, Crapo JD.** Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47:412-415.
 13. **Basaga HS.** Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol* 1989; 68:989-998.
 14. **Gerschman R.** Oxygen poisoning and X-Irradiation. A mechanism in common. *Science* 1954; 119:623-626.
 15. **Hazneci E, Karabulut AB, Oztürk C, Baticioglu K, Dogan G, Karaca A, Esrefoglu M.** A comparative study of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities and nitrate levels in vitiligo patients. *Int J Dermatol.* 2005; 44(8):636-640.
 16. **Jeong YM, Choi YG, Kim DS, Park SH, Yoon JA, Kwon SB, Park ES, Park KC.** Cytoprotective effect of green tea extract and quercetin against hydrogen peroxide-induced oxidative stress. *Arch Pharm Res.* 2005; 28(11):1251-1256.
 17. **Packer L.** Vitamin E is nature's master antioxidant. *Sci Am Sci Med* 1994; 1:54-63.
 18. **Kuiters GRR, Middelkamp Hup J, Siddiqui AH, Cormane RH.** Oral phenylalanine loading and sunlight as source of UVA irradiation in vitiligo on the Caribbean island of Curacao NA. *J Trop Med Hyg* 1986; 89:149-155.
 19. **Camacho F.** L-Fenilalanina en el tratamiento del vitiligo. *Monogr Dermatol* 1995; 8:190-204.
 20. **Cormane RH, Siddiqui AH, Westerhof W, Schutgens RBH.** Phenylalanine and UVA light for the treatment of vitiligo. *Arch Dermatol Res* 1985; 277:126-130.
 21. **Antoniou C, Schulpis H, Michas T, Katsambas A, Frajis N, Tsagaraki S, Stratigos J.** Vitiligo therapy with oral and tropical phenylalanine. *Science* 1989; 28(8):545-547.
 22. **Rayan WI, Carver MJ.** Inhibition of antibody synthesis by L-Phenylalanine. *Science* 1964; 143:479-480.
 23. **Ryan WI.** Inhibition of immune response by phenylalanine. *JAMA* 1965; 191:119-120.
 24. **Westerhof W, Groot I, Krieg SR, Bos JD, Cormane RH.** Langerhans' cell population studies with OKT6 and HLA-DR monoclonal antibodies in vitiligo patients treated with oral phenylalanine loading and UVA irradiation. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1986; 66:259-262.
 25. **Biella U, Haustein UF.** Behandlung der vitiligo mit phenylalanine und UVB-Strahlung. *Hautarzt* 1990; 41:636.
 26. **Turrens J.** Fuentes intracelulares de especies oxidantes en condiciones normales y patológicas. *Antioxidante y Calidad de Vida.* 1994; 1:16-19.
 27. **Tosaki A, Droy-Lefaix MI, Pali L, Das DK.** Effects of SOD, catalase and a novel antiarrhythmic drug, EGB 761 on perfusion induced arrhythmias in isolated rat hearts. *Free Radic Biol Med* 1993; 14:361-370.
 28. **Stepanik TM, Edwing DD.** Coisolation of glutathione peroxidase, catalase and superoxide dismutase from human erythrocytes. *J Biochem Biophys Methods* 1990; 20(2):157-169.
 29. **Mosher DB, Fitzpatrick TB, Ortone JP.** Desórdenes de los melanocitos. En: Fitzpatrick E, Wolf FA. *Dermatología en medicina general.* 2a ed. Buenos Aires: Médica Panamericana 1997. pp. 626-682.
 30. **Lee AY, Jang JH.** Autologous epidermal grafting with PUVA irradiated donor skin for the treatment of vitiligo. *Int J Dermatol* 1998; 37:551-554.
 31. **Kumagai N, Uchikoshi T.** Treatment of extensive hypomelanosis with autologous cultured epithelium. *Ann Plast Surg* 1997; 39:68-73
 32. **Woodley DT, O'keefe EJ, Pruneiras M.** Cutaneous wound healing: A model for cell-matrix interactions. *J Am Acad Dermatol* 1985; 12:420-433.