

TECNOLOGIA Y DERMATOLOGIA

Dr. Oscar Reyes Flores*

En los últimos años, el avance de la tecnología ha E ofrecido ala medicina diversos procedimientos que han resultado de gran utilidad para la investigación y especialmente para la identificación y diagnóstico de diversas patologías.

La aplicación de estos métodos en la dermatología nos ofrece una estupenda oportunidad de estudio e investigación y constituyen hoy día una pieza indispensable para el diagnóstico de diversas enfermedades cutáneas.

INMUNODERMATOPATOLOGIA

La aplicación de técnicas inmunológicas a la histología convencional comenzó en 1.941 cuando Coons y colaboradores crearon los métodos de inmunofluorescencia para detectar depósitos de proteínas en los tejidos. La inmunodermatopatología comienza con la descripción de la Banda Lupica demostrada por Bumham y colaboradores en 1.963. En los años siguientes Beutner y Jordon demostraron la presencia de auto-anticuerpos en suero de pacientes con Penfigo Vulgar. (1.964).

* Coeditor Dermatología Venezolana

Otras observaciones claves en el diagnóstico de varias enfermedades dermatológicas han sido las siguientes:

Cormane, Dermatitis Herpetiforme (1.967)

Jordon y colaboradores, Penfigoide Ampollar (1 .967)

ProvostyTomasi, Herpes Gestationis (1.973)

Esterlyy colaboradores, Dermatitis Ampollar Lineal IgA de la infancia (1.977)

Yaoita y colaboradores, Dermatitis Ampollar Adquirida (1.981)

Hall y colaboradores, Lupus Eritematoso Ampollar (1.982)

Leonard y colaboradores, Enfermedad IgA Lineal del Adulto (1.982)

Huff y colaboradores, Dermatitis neutrofílica IgA Intraepidérmica (1.985)

ANTICUERPOS MONOCLONALES

Una nueva era en inmunología nació en 1.975 con el descubrimiento de latécnica de Hibridoma, porGeorges Kohlery César Milstein. Hasta entonces era virtualmente imposible producir un anticuerpo o cualquier anticuerpo contra un simple Antígeno.

En esencia, la técnica consiste en la fusión del material nuclear de dos células: una célula normal, Linfocito B sensibilizado obtenido del Bazo de ratón y una segunda

célula, de Mieloma Múltiple de ratón que crece en cultivo. El resultado es una célula híbrida con características de ambas células con producción constante inmortal de la célula de Mieloma. La célula Híbrida es capaz de producir anticuerpos monoclonales con predeterminada especificidad contravirtualmente cualquier antígeno. Clones de células produciendo anticuerpos crecen en cultivo de tejidos o en la cavidad peritoneal del ratón de donde se pueden retirar cantidades ilimitadas de anticuerpos.

La actividad especificada los anticuerpos producidos por hibridomas con inmunógenos respectivos, pueden ser revisadas y detectadas con métodos bioquímicos, radioinmunoensayo o inmunoensayo enzimático (Elisa), métodos inmunocitoquímicos, inmunofluorescencia e inmunoperoxidasa, o ensayos de citotoxicidad o inmunoprecipitación.

Anticuerpos monoclonales seleccionados para usar en diagnóstico inmunohistoquímico:

| <u>ANTICUERPO:</u> | <u>MARCAJE:</u> |
|-----------------------------|-----------------------------------|
| Anticitoqueratinas AE1/AE3 | Células epiteliales y tumores |
| Cam5.2 | Células epiteliales y tumores |
| Mak-6 | Células epiteliales y tumores |
| Antidesmina | Células miogénicas y tumores |
| Antivimentina | Células mesenquimales y tumores |
| Proteína antineurofilamento | Células neurales y tumores |
| Membrana Antiepitelial | Células epiteliales y tumores |
| Antileucocito común | Células Hematopoyéticas y tumores |
| Anticarcinoembrionario | Epitelio y tumores epiteliales |
| Antifactor VIII | Células endoteliales y tumores |
| Pal-M1 y Pal-M2 | Melanoma Maligno |
| OKT 9 | Melanoma Maligno |
| D07 | Epiteliomas |
| CD30 (Ki-1) | Linfoma |
| MY 7 (CD 13) | Linfoma |

Actualmente se dispone de muchos marcadores celulares, provenientes de varios laboratorios de USA y Europa.

LIPOSOMAS

Los liposomas son partículas artificiales compuestas por varios tipos de fosfolípidos, que, dispersos en un medio acuoso orientan sus cargas eléctricas formando microesferas con agua en su interior, siendo análogas a las membranas celulares. Los liposomas fueron descubiertos por Bangham, Alec D. en 1.961. En 1.988 los labora-

torios Cilag Corp. registró una preparación de liposomas conteniendo econazole. Posteriormente se preparó Liposomas conteniendo dipropionato de betametasona y se estudia el encapsulamiento liposómico de tretinoína, minoxidil, hidroquinona, antibióticos, fotoprotectores y otras sustancias.

Los liposomas pueden encapsular tanto sustancias hidrofílicas como lipofílicas. El liposoma actúa como transportador de un agente activo encapsulado en su interior hasta el sitio pre-establecido donde por diversos mecanismos (absorción, endocitosis) libera la sustancia para ejercer su acción farmacológica. Los liposomas son producidos por varios métodos artificiales: evaporación reversa, dispersión por ultrasonido, microfluidificación y otros. Conforme al método escogido hay formación de vesículas pequeñas unilamelares, vesículas grandes unilamelares y vesículas grandes multilamelares. Las láminas o membranas están formadas por una parte hidrofóbica insoluble en agua y compuesta de cadenas de ácidos grasos conteniendo 10 a 24 átomos de carbono y una parte hidrofílica formada por la unión de ácido fosfórico con cualquier molécula hidrosoluble. Para uso dermatológico los liposomas vienen preparados en gel conteniendo del 1 al 5% de la sustancia activa.

REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA

Con este procedimiento técnico, es posible, en pocas horas, y partiendo de una cantidad mínima de ADN producir grandes cantidades o porciones de la molécula inicial gracias al crecimiento molecular en que se basa el proceso. Su aplicación diagnóstica tiene gran utilidad en las enfermedades hereditarias, en las infecciones por microorganismos, procesos autoinmunes, patología forense y antropología. Así, la muestra en estudio para determinar un diagnóstico basado en la secuencia de ADN por el método RCP puede provenir del laboratorio, del quirófano, del consultorio, de la morgue o de una momia, y estar representada por piel u otro órgano, sangre, saliva, semen o cabello. Este procedimiento fue ideado por Kary B. Mullis, bioquímico especializado en síntesis de oligonucleótidos. (1.983 -1.984).

EPILUMINESCENCIA MICROSCOPICA

Epiluminescencia microscópica es una técnica clínica que permite in vivo una inspección visual de las estructuras anatómicas pigmentadas de la epidermis, de la unión dermo-epidérmica y de la dermis papilar.

El concepto de epiluminescencia microscópica no es nuevo. Hans Hinselmann publicó en 1.933 un clásico artículo sobre la materia, titulado "Die Bedeutung der Kolposkopiefurden Dermatologen". Leon Goldman usó el procedimiento para evaluar los nevus pigmentados, hace más de 40 años.

En 1.974, William Cunliffe y colaboradores, emplearon un microscopio monocular sobre la superficie de la piel. Pero la actualización de este procedimiento y su reconocimiento internacional se debe a los estudios de Fritsch y Pechlaner de Innsbruck, Austria, en 1.980. La técnica consiste en colocar una fina capa de aceite mineral sobre la lesión a examinar y observar las estructuras pigmentadas debajo de la superficie de la piel, con un lente de aumento de 6X a 40X usando un lente de mano, un este reomicroscopio, una cámara o un sistema de imagen electrónica. Diversos patrones morfológicos se han descrito correspondiendo a determinada lesión pigmentada. Imágenes conforma radiada, con extensión irregular con pseudópodos y si tienen forma de red o malla, sugieren melanoma. Imágenes con tonalidad rojo-azulada, sugieren hemangiomas angioqueratoma. Imágenes con patrón que parecen comedones sugieren queratosis seborreica.

RESONANCIA MAGNETICA

Imagen de resonancia magnética es una técnica que ha provocado una verdadera revolución en muchas áreas de la medicina y está comenzando a ser apreciada por los dermatólogos.

La primera descripción experimental de resonancia magnética nuclear apareció en una carta al editor de Physical Review escrita por Rabi y colegas del departamento de física de la universidad de Columbia, New York, NY.

Muchos investigadores de la comunidad radiológica comparan el 31 de enero de 1.938, fecha en que Rabi y sus colegas hicieron su publicación, con el 5 de noviembre de 1.895, la fecha del descubrimiento de los rayos X por Roentgen. La base de la técnica de imagen de resonancia magnética es la variante respuesta de diferentes moléculas cuando ellas son perturbadas en un campo magnético. Átomos con número impar de protones responderán fuertemente a la presencia de un campo magnético

Con este procedimiento se puede evaluar el compromiso extra-cutáneo en neurofibromatosis, esclerosis tuberosa, y síndrome de Sturge-Weber. El método ha sido usado para evaluar el tamaño y extensión de tumores localizados en zonas anatómicas de difícil acceso tales como la órbita, zonas nasales, manos y áreas genitales, pero también ha sido usado para evaluar tumores agresivos, como carcinoma verrugoso, carcinoma sebáceo, melanoma nodular, tumor de Merkel, dermatofibrosarcoma protuberans y linfangioma circunscrito. También ha prestado utilidad en la evaluación del metabolismo tisular cutáneo, irrigación y/o isquemia de la piel y promete ser útil para la evaluación diagnóstica de la dermatomiositis.

ULTRASONIDO

Esta técnica ofrece la posibilidad de examinar áreas múltiples de piel con un método no invasivo y además puede apreciarse aspectos de la piel que no pueden ser observadas visualmente o con el examen histológico.

El ultrasonido es una propagación de energía acústica a través de sustancias sólidas o líquidas, incluyendo tejidos humanos. Por definición ultrasonido es energía por encima de 20 KHz el cual es el límite superior de la capacidad del oído humano.

La energía acústica es generada por un transductor que emite una pequeña descarga de energía acústica cuando se le aplica el voltaje. El transductor es un cristal muy delgado en forma de disco hecho de un material piezo-eléctrico. Este material se expande o se contrae cuando se le aplica un voltaje obteniéndose vibraciones acústicas.

Los primeros transductores estaban hechos de cuarzo, recientemente se han usado otros materiales incluyendo sulfato de litio, titanato de plomo - circonio y polímeros plásticos como el polivinilidene fluor (PVDF).

El desarrollo de estos materiales ha hecho posible la aplicación del ultrasonido en la Dermatología y permitió el desarrollo de transductores que producen frecuencias más altas. Frecuencias más altas la longitud de onda es más corta y por este motivo se puede rastrear objetos más pequeños. La resolución de los sistemas de ultrasonido puede ser axial o lateral. Las resoluciones axiales y laterales obtenidas a frecuencias más altas, hace posible la visualización de las capas de la piel y sus estructuras.

La energía acústica queda mas atenuada a frecuencias mas altas, es por esto que las altas frecuencias usadas para visualizar estructuras de la piel, no son capaces de suministrar imágenes de tejidos mas profundos.

Los sistemas de ultrasonido para diagnóstico funcionan como un radar ("RADIO DETECTION AND RANGING") o ecosonograma.

Unadescargade energía acústica es emitida desde el transductor, la rápida expansión y contracción del mismo se acopla al tejido o fluido adyacente y se propaga como una ola, esta recorre un camino bien definido a una velocidad conocida esta ola conforme a las leyes físicas de propagación de ondas de tal forma que todos los efectos son predecibles y entendidos. La onda es parcialmente reflejada y refractada en los límites del tejido; el eco llega al transductor lo hace vibrar rápidamente generando una diferencia de voltaje entre los electrodos, estas señales son procesadas y almacenadas por un sistema de computación.

Numerosas lesiones dermatológicas han sido estudiadas por este sistema: estudio del engrosamiento de la piel y mucosa en afecciones inflamatorias, atrofia esteroidea, dermatoesclerosis, arrugas, quemaduras, tumores (Angiomas, Sarcoma de Kaposi, Carcinoma Baso - celulary Melanoma) y otras condiciones

Evidentemente que éstas técnicas representan un desafío para las naciones en desarrollo, con poco poder económico, o con poder económico mal administrado, puesto que son variablemente costosas necesitando ser manejadas por personal médico y tecnológico debidamente entrenado.

REFERENCIAS

- 1.- Flotte T. J. Immunodermatopathology. Arch. Dermatol. 1992, 128, 252-253.
- 2.- Cenoni L., Kerl H.: Immunohistological diagnosis of cutaneous lymphomas. Derm. Rev. Mex., 1991, 35, 285-291.
- 3.- Wick MR.: Monoclonal antibodies in Diagnostic Dermatopathology. Am. J. Dermatopath. 1987, 9 (3) 185-188

- 4.- Tapia F.J., Campo-Asen 1. Anticuerpos monoclonales: Trascendencia y aplicación. Bol. Depto. Med. Prevent. Soc. Facultad Medicina U.C.V. 1984, 18, 23-25.
- 5.- Korting M.S. et. al. Liposome preparations: A step forward in topical drug therapy for skin disease? J. Am. Acad. Dermatol. 1989, 21, 1271-1275.
- 6.- Korting H C., Blecher P, Schafer-Korting M. Wendel A.: Topical liposome drugs to come: What the patent literature tells us. J. Am. Acad. Dermatol. 1991, 25, 1068-1071.
- 7.- Schadendorf D., Czametzki B. M. Gene Amplification by Polymerase Chain Reaction in Dermatology. J. Invest Dermatol. 1991, 97, 751-755.
- 8.- Cohen D, et al. In vivo Cutaneous Surface Microscopy: Revised nomenclature. Int. J. Dermatol. 1993, 32, 257-258.
- 9.- Kenet Sewon R.O. et al. Clinical Diagnosis of pigmented Lesions Using Digital. Epiluminescence Microscopy. Arch. Dermatol. 1993. 129, 157-174.
- 10.- Zemtsov A., Dixon L. Magnetic Resonance in Dermatology. Arch. Dermatol. 1993, 129, 215-218.
- 11.- Truhan A.P., Filipek P. Magnetic Resonance Imaging. Arch. Dermatol. 1993, 129, 219-226.
- 12.- Dunn C. L., James W. D., The Role of Magnetic Resonance Imaging in the Diagnostic Evaluation of Dermatomyositis. Arch. Dermatol. 1993, 129, 1104-1106.
- 13.- Stiller M. J., et al. Diagnostic High Resolution Ultrasonido in Dermatology. Int. J. Dermatol. 1993, 32, 243 - 250.