

Fibril·logènesi de la *Porfíria cutanea tarda*

M^a Mercè Alsina i Gibert

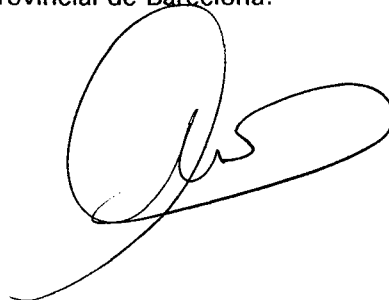
ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

FIBRIL·LOGENESI DE LA *PORFIRIA CUTANEA TARDA*

Tesi presentada per M^a Mercè Alsina i Gibert per a optar al grau de Doctor en Medicina, dirigida pel Professor Josep M^a Mascaró Ballester, Catedràtic de Dermatologia de la Universitat de Barcelona i Cap del Servei de Dermatologia del Hospital Clínic i Provincial de Barcelona.

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized initial 'J' followed by a series of loops and a long horizontal stroke extending to the right.

Aquest treball va ser becat amb el segon premi de les beques per a projectes d'investigació dermatològica dels Laboratoris Schering-Essex, i primer lloc a l'accèsit del Premi 'August Stiefel' de l'Acadèmia Espanyola de Dermatologia i Venereologia, 1990.

AGRAIMENTS

Al meu director, Professor JM^aMascaró, catedràtic de Dermatologia de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona i Cap del Departament Assistencial de l'Hospital Clínic i Provincial, per tot l'ajut rebut.

A la Dra Carme Herrero, per tots els consells i el temps esmerçat en el procés d'elaboració d'aquest treball, així com la seva paciència i estímulo al llarg d'aquests anys.

Voldria expressar el meu agraïment a tots els meus companys de feina, i molt especialment al Dr. Màrius Lecha, que d'una manera o una altra han estat fent-me costat, tant en els moments d'eufòria com en els de dubte, els quals han estat nombrosos en el decurs d'aquest treball de tesi.

Així mateix, agrair als Drs. M^a LLuïsa Mariñoso, Josep LLoreta i Josep Bombí per la seva impagable ajuda tècnica.

A les companyes de laboratori, especialment la Dra. Ant^aM^a Muniesa i Na Maria Sala, per la seva voluntariositat i encert al resoldre les dificultats sorgides en el procés de preparació d'aquest estudi.

Al Pau i a la Maria, perquè han sabut comprendre les hores dedicades a l'elaboració d'aquesta tesi.

I finalment, al Manuel, pel seu esforç quotidià.

A la meva mare,
al Manel,
al Pau i
a la Maria.

INDEX GENERAL	
1. INTRODUCCIO	<u>5</u>
1.1. GENERALITATS. CARACTERISTIQUES DE LA <i>PORFIRIA CUTANEA TARDA</i>	<u>5</u>
1.2. CLINICA DE LA <i>PORFIRIA CUTANEA TARDA</i>	<u>7</u>
1.2.1. LESIONS ESCLERODERMIFORMES	<u>11</u>
1.3. CARACTERISTIQUES MICROSCOPIQUES	<u>15</u>
1.3.1. HISTOPATOLOGIA	<u>15</u>
1.3.1.1. PELL FOTOEXPOSADA	<u>15</u>
1.3.1.2. PELL FOTOPROTEGIDA	<u>16</u>
1.3.1.3. LESIONS AMPOLLOSES	<u>16</u>
1.3.1.4. LESIONS ESCLERODERMIFORMES	<u>16</u>
1.3.2. ULTRAESTRUCTURA	<u>17</u>
1.3.2.1. <i>PORFIRIA CUTANEA TARDA</i> ACTIVA	<u>18</u>
1.3.2.2. <i>PORFIRIA CUTANEA TARDA</i> CRONICA	<u>18</u>
1.3.2.3. PELL FOTOPROTEGIDA	<u>18</u>
1.3.2.4. LESIONS ESCLERODERMIFORMES	<u>19</u>
1.3.3. INMUNOPATOLOGIA	<u>22</u>
1.3.3.1. INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA	<u>22</u>
1.3.3.2. INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA	<u>22</u>

1.4. PATOGENESI	<u>23</u>
1.4.1. PATOGENESI DE LA FOTODERMATOSI	<u>23</u>
1.4.1.1. TEORIA DE LA FOTO-OXIDACIO	<u>23</u>
1.4.1.2. TEORIA DEL DANY PRODUIIT PELS ENZIMS LISOSOMICS	<u>24</u>
1.4.1.3. TEORIA DE LA SÒLUBILITAT	<u>24</u>
1.4.1.4. TEORIA INMUNOLOGICA	<u>25</u>
1.4.2. PATOGENESI DE LES LESIONS ESCLERODERMIFORMES	<u>29</u>
1.4.2.1. TEORIA CLINICA	<u>29</u>
1.4.2.2. TEORIA VEGETATIVA	<u>30</u>
1.4.2.3. TEORIA FIBRILLOGENICA	<u>30</u>
1.4.2.4. TEORIA INMUNOLOGICA	<u>31</u>
1.5. COMPARACIO AMB ALTRES PROCESOS FIBROTICS	<u>33</u>
1.5.1. ESCLERODERMIA	<u>33</u>
1.5.2. DIABETIS	<u>35</u>
1.5.3. IRRADIACIO	<u>36</u>
1.5.4. HELIODERMATITIS CRONICA	<u>36</u>
1.5.5. SINDROMES ESCLERODERMIFORMES TOXICS	<u>39</u>
1.5.5.1. SINDROME EOSINOFILICA	
1.5.5.2. SINDROME DE L'OLI TOXIC	
1.5.5.3. PER IMPLANTS DE SILICONA	
2. OBJECTIUS	<u>40</u>

3. METODOLOGIA PREPARATIVA	<u>41</u>
3.1. MALALTS ESCOLLITS	<u>41</u>
3.2. OBTENCIO DE MOSTRES	<u>42</u>
3.3. ESTUDI HISTOPATOLOGIC	<u>43</u>
3.3.1. VALORACIO GENERAL	<u>43</u>
3.3.2. RECOMPTE DE MASTOCITS	<u>44</u>
3.4. ESTUDI ULTRAESTRUCTURAL	<u>44</u>
3.5. ESTUDI HISTOMORFOMETRIC	<u>45</u>
4. RESULTATS	<u>52</u>
4.1. ESTUDI HISTOPATOLOGIC	<u>52</u>
4.1.1. PELL FOTOPROTEGIDA	<u>52</u>
4.1.2. PELL FOTOEXPOSADA	<u>52</u>
4.1.3. CANVIS DERMICS (<i>PELL EXPOSADA</i>)	<u>53</u>
4.1.4. MASTOCITS	<u>61</u>
4.1.4.1. NOMBRE DE MASTOCITS	<u>61</u>
4.1.4.2. DISTRIBUCIO SEGONS NIVELLS	<u>61</u>
4.1.4.3. RELACIO NOMBRE DE MASTOCITS/CLINICA	<u>64</u>
4.2. ESTUDI ULTRAESTRUCTURAL	<u>72</u>
4.2.1. DIAMETRE DE LES FIBRES DE COL.LAGEN	<u>72</u>
4.2.2. REDUCCIO DE DIAMETRE A <i>PELL EXPOSADA</i>	<u>75</u>
4.2.3. NOMBRE DE FIBRES PER AREA	<u>78</u>

5. DISCUSSIO	85
5.1. CLINICA	85
5.2. ESTUDI HISTOPATOLOGIC	87
5.3. ESTUDI ULTRAESTRUCTURAL	97
6. CONCLUSIONS	105
7. BIBLIOGRAFIA	108

INTRODUCCIO

1. INTRODUCCIO

1.0. CARACTERISTIQUES DE LA PORFIRIA CUTANEA TARDA

1.0.1. GENERALITATS.

Les porfíries són un grup heterogeni de malalties metabòliques hereditàries degudes a defectes enzimàtics de la via de la biosíntesi del grup hem i que ocasionen una sobreproducció i eliminació de metabòlits intermediaris denominats porfirines (Mascaró *i cols*, 1982).

Les porfirines són substàncies que emeten fluorescència si són exci-tades amb llum de longituds d'ona apropiades (400-410nm); i a més tenen capacitat fotosensibilitzant ben coneguda. Aquesta propietat fotosensibilitzant seria la causant de la major part de la simptomatologia dermatològica que presenten els malalts amb porfíria.

Depenent del nivell metabòlic on es produeix el defecte enzimàtic, del patró d'excreció dels metabòlits que es troben en excés i de la clínica amb que es manifesten (Mascaró, 1983; Herrero, 1989) s'han classificat clàssicament en dos grans grups:

- Porfíries Eritropoiètiques.

Porfíria eritropoiètica congènita (PEC)

Protoporfíria eritropoiètica (PPE)

- Porfíries Hepàtiques.

Porfíria aguda intermitent (PAI)

Coproporfíria hereditària (CPH)

Porfíria variegata (PV)

Porfíria cutanea tarda (PCT)

Porfíria per dèficit de PBG-sintetasa

En el nostre medi el tipus més freqüent és la *Porfiria cutanea tarda* la qual es deu a un defecte de l'enzim uroporfirinogen-descarboxilasa. La disminució o alteració d'aquest enzim provoca un acúmulo d'un intermediari metabòlic, l'uroporfirinogen, el qual es transforma per oxidació en uroporfirina (URO). El diagnòstic bioquímic de la malaltia es basa en la detecció de nivells alts d'URO a l'orina, així com de nivells alts a femta d'un altre metabòlit també oxidat, la isocoprofirina (taula 2). La quantitat d'URO excretada, encara que elevada, pot oscil·lar en el decurs de la malaltia (Kalb *i cols*, 1985).

La *Porfiria cutanea tarda* pot deure's a diferents factors etiològics (Herrero, 1989):

La *forma hereditària*, transmesa amb caràcter autosòmic dominant.

La *forma esporàdica*, no familiar, induïda possiblement per l'alcohol, el ferro, els estrògens o altres agents, que provocarien la malaltia al actuar sobre un terreny predisposat genètic o adquirit.

La *forma tòxica*, induïda per certes substàncies químiques que inhibeixen específicament l'enzim uroporfirinogen-descarboxilasa hepàtica.

1.2. CLINICA DE LA PORFIRIA CUTANEA TARDA.

La *Porfiria cutanea tarda* s'observa preferentment en individus del sexe masculí i d'edats compreses entre els 40 i 60 anys (Enríquez de Salamanca *i cols*, 1982), encara que en certs països com els EEUU, s'ha trobat una incidència elevada en el sexe femení, sobretot a la quarta dècada de la vida (Grossman *i cols*, 1979).

Des del punt de vista de la clínica, les porfíries es caracteritzen per les manifestacions derivades de la fotosensibilitat induïda per les porfirines acumulades a nivell de la pell, i es classifica bàsicament en dues formes:

- *Forma aguda*. Una síndrome d'eritema, edema, púrpura i pruïja de caràcter aguda, característica de la PPE, però que es pot veure també en altres porfíries amb grans acúmuls de porfirines. Es dona preferentment a dors de mans i cara, autoresolent-se en un temps variable de hores a varis dies. La intensitat i duració de l'exposició lumínica necessària per a aquesta reacció varia d'un malalt a l'altre. A la llarga després d'anys d'episodis repetits resten com a seqüeles un engruiximent de la pell i unes lesions cicatricials lineals o varioliformes cèries a les zones afectades.

- *Forma subaguda*. I una síndrome de butllosis, erosions i fragilitat cutània, normalment subaguda, a zones d'exposició solar i de predomini a la primavera i a l'estiu. Es la manifestació habitual de la *Porfíria cutanea tarda*, la PV, la PHE, la PEC i la CPH. Amb el temps comporta hiperpigmentació, hipertricosi, presència de quists de milium, envelliment precoç, alopecia cicatricial, limfangiectàsies papulars centrofacials, distròfia ungueal i canvis de tipus esclerodermiformes de la pell (Bickers, 1986; Brunsting, 1949 i 1954; Doyle i Friedman, 1983; Eubanks i cols, 1983; Grossman i cols, 1979; Harber i cols, 1982; Harber i Bickers, 1975; Herrero, 1989; Jablonska i Szczepanski, 1963;

Mascaró *i cols*, 1982; 1985 i 1986; Poh-Fitzpatrick, 1982; Simon *i cols*, 1977).

La *síndrome subaguda* es dóna preferentment a zones descobertes, especialment al dors de les mans i cara, encara que en el sexe femení s'afecten també de manera característica cames i dors de peus. En aquestes regions es dóna l'anomenat signe de *Dean* (l'aparició d'una erosió després del gratat de la pell), el qual demostra la fragilitat cutània no associada directament a l'exposició solar, i que es presenta en un 75% dels malalts (Grossman *i cols*, 1979; Mascaró *i cols*, 1982).

Els *fenòmens de bullosi* són característics i constants (85% dels malalts). Es presenten a brots, de manera espontània o induïts per traumatismes mínims o per l'exposició a la llum solar, al calor i fins i tot per la ingesta d'alcohol. L'aparició de les mateixes va acompanyada de sensació de cremor de la zona afectada.

Les lesions vesículo-ampolloses són de mida petita, fràgils i poden aparèixer sobre pell d'aspecte normal o bé amb un halo inflamatori. Lesions de mida més gran prenen una aparença flàccida prèvia la seva involució. El contingut és clar o hemorràgic evolucionant ràpidament cap a la formació de costres, i a la cicatrització amb cicatrius superficials amb quists de milium, i àrees clapejades hipo-hiperpigmentades. Al cuir cabellut aquestes cicatrius podent provocar alopecia cicatricial, la qual es veu en un 13% dels malalts (Mascaró *i cols*, 1982).

La *hiperpigmentació* és una manifestació freqüent però inconstant (55% de malalts amb *Porfiria cutanea tarda* evolucionada, podent-se observar al mateix temps que les ampolles. Es presenta principalment a la cara, zones malars i temporals (on adopta aspecte de melasma) i també a dors de mans. La distribució és habitualment homogènia, progressiva, podent prendre tonalitats violades, grisoses o blavoses, semblants a les que s'observa a la malaltia d'Addisson. No és rar, però, que es distribueixi en forma reticulada o clapejada, i que inclogui àrees hipopigmentades, configurant característiques poiquilodèrmiques (Giannada *i cols*, 1982; Grossman *i cols*, 1979; Mascaró *i cols*, 1982).

La *hipertricosi*, encara que no sempre present (63% dels malalts), és una de les manifestacions més precoces. Apareix a les mateixes zones que la hiperpigmentació, sense patró virilliforme, i a més pot afectar regió sub-orbitària, piràmide nasal, zones temporals i de cua de cella, pavellons auriculars i braços, havent-se descrit també a tronc i cames (Grossman *i cols*, 1979; Mascaró *i cols*, 1982).

L'*envelliment precoç* de la pell es dona en malalts amb *Porfiria cutanea tarda* de llarga evolució i junt a manifestacions de heliodermatitis. La pell de la cara es torna gruixuda, arrugada i amb plecs, conferint a l'individu un aspecte envellit. Es formen lesions característiques de l'*elastoidosi nodular de Favre i Racouchot* a les regions malars i perioculars, canvis de cutis romboidal amb pigmentació a la regió cervical posterior, i lesions de milium col.loïdal simètricament distribuïdes a fàcies (Grossman *i cols*, 1979; Mascaró *i cols*, 1982).

L'*alopècia porfírica* es una manifestació rara que es presenta conjuntament amb els canvis esclerodermiformes, encara que els pot precedir en anys. S'inicia de manera sobtada a regions fronto-parietals i occipitals, i evoluciona a una pèrdua regular de cabells a la vora d'implantació dels mateixos (Mascaró *i cols*, 1982 i 1986; Piñol *i cols*, 1971).

Les *limfagiectàsies papulars* centro-facials són lesions papuloses puntiformes del mateix color de la pell normal, superfície llisa i consistència elàstica, localitzades a plecs naso-genians i, més rarament, a la barbata i regió perioral (Piñol *i cols*, 1969).

1.2.1.- LESIONS ESCLERODERMIFORMES.

L'existència de lesions semblants a l'esclerodèrmia en malalts amb *Porfíria cutanea tarda* varen ser descrites per Günther a 1912 i Kreibitz a 1923. Es presenten des d'aproximadament un 20% fins a un 30% dels malalts, essent comparables a les lesions que s'observa a l'esclerodèrmia, i fins i tot al líquen esclero-atròfic, a la líquenificació, o al vitiligen podent-se diferenciar clínicament d'aquestes malalties per la coexistència de la clínica específica de bullosi a mans i fàcies a la *Porfíria cutanea tarda*. Generalment són lesions tardanes i es donen en malalts amb *Porfíria cutanea tarda* de llarga evolució (Magnin *i cols*, 1982).

Les principals localitzacions descrites són el front, zona preauricular de la cara, el coll, zona pre-esternal, la nuca, el cuir cabellut i el tòrax, especialment zones supraclaviculars, les quals semblen les de més fàcil confusió amb l'esclerodèrmia encara que també poden afectar-se zones del cos no exposades a la radiació solar. Es paradòxic que no s'afectin cara i mans amb tanta freqüència com les localitzacions prèviament esmentades, havent comprovat Jablonska que a la cara les lesions es produeixen a zones de traumatismes mínims, com són a la zona de fregadís de les ulleres.

Les lesions comencen freqüentment com a plaques de morfea o líquen esclerós, amb pell brillant, atròfica, blanquinosa o groguenca i pèrdua dels annexos pilosos. Posteriorment les lesions adopten una consistència dura, amb alteracions hipo i hiperpigmentàries.

A la cara les lesions poden produir la mateixa clínica de les lesions de l'esclerodèrmia, amb fàcies amímic, nas prominent, presència de plecs periorals i enduriment palpebral, donant el conjunt l'aspecte de màscara de cuir. S'acompanya ocasionalment d'afinament labial, sense retracció dels llavis. S'ha descrit l'associació a conjuntivitis, cataractes i escleritis (Baron *i cols*, 1983; Bopp *i cols*, 1975; Sober *i cols*, 1980).

Als pavellons auriculars, les lesions poden produir mutilacions.

Als dits, l'associació de butllofes i lesions esclerodermiformes provoca esclerodactília, no associada a fenomen de Raynaud o alteracions de la mobilitat.

En un 15% dels malalts es produeix una complicació característica d'aquestes lesions: Les calcificacions, especialment a zones preauriculars i cuir cabellut. Les lesions evolucionen a la ulceració, no guarint fins que tots els micròlits han estat transeliminats. Rarament, aquestes calcificacions poden provocar un bloqueig del moviment articular a nivell del coll (Borda *i cols* 1963; Doyle i Friedman, 1983; Gianadda *i cols*, 1982; Grossman *i cols*, 1979; Harber i Bickers, 1975; Ippen, 1961; Jablonska i Szczepanski, 1963; Malkinson *i cols*, 1965; Mascaró *i cols*, 1982; Potter *i cols*, 1964; Scholnick *i cols*, 1977; Simon *i cols*, 1977).



Fig 1. Lesions esclerodermiformes característiques de la *PORFIRIA CUTANEA TARDA*, localitzades a zones fotoexposades.

1.3.- CARACTERISTIQUES MICROSCOPIQUES DE LA *PORFIRIA CUTANEA TARDA*.

1.3.1.- HISTOPATOLOGIA.

1.3.1.1. PELL FOTOEXPOSADA.

Des del punt de vista de la histopatologia, a la *Porfiria cutanea tarda*, al igual que els altres tipus de porfíries amb manifestacions cutànies, es produeixen canvis actínic degeneratius crònics a la *pell exposada*, que poden atribuir-se en gran part a l'edat dels malalts estudiats.

L'epidermis és hiperqueratòtica, amb hipergranulosis i acantosis. S'observa engruiximent de la membrana basal dermo-epidèrmica i dels vasos sanguinis, en els que la paret es tenyeix positivament i el dipòsit és PAS diastasa positiu (PAS-D). A més, es descriu la presència d'un material amorfe a dermis papil·lar Blau alcià positiu.

L'infiltrat inflamatori que acompanya aquests canvis és habitualment mínim, i està compost majoritàriament per cèl·lules mononucleades i mastòcits

La *pell exposada* dels malalts amb *Porfiria cutanea tarda* inactiva mostra també la presència d'aquests dipòsits vasculars i perivasculars, però en menor grau, sense observar-se l'engruiximent de la paret dels vasos (Baart de la Faille, 1975; (1971; Epstein *et cols*, 1973; Eubanks *et cols*, 1983; Grossman *et cols*, 1979; Harber i Bickers, 1975; Kemmer *et cols*, 1988; Kint i de Bersaques, 1968; Köstler *et cols*, 1988; Maynard i Peters, 1992; Muhlbauer i Pathak, 1979; Nonaka *et cols*, 1975; Poh-Fitzpatrick, 1982; Ryan i Madill, 1968; Sekula *et cols*, 1986; Tosti i Villardita, 1971; Wolff *et cols*, 1982).

1.3.1.2. PELL FOTOPROTEGIDA.

La *pell protegida* a la llum solar és basicament normal (Epstein *i cols*, 1973).

1.3.1.3. LESIONS AMPOLLOSES.

Les lesions ampolloses es produeixen a diferents nivells de l'epidermis, predominant el nivell subepidèrmic, sense fenòmens d'acantolisi sobreafegits. Es presenta edema de la dermis papil·lar i protusió característica de les papiles dèrmiques a tipus de projeccions digitals o festonejat (Cormane *i cols*, 1971; Feldaker *i cols*, 1955; Grossman *i cols*, 1979; Kemmer *i cols*, 1988; Sekula *i cols*, 1986).

1.3.1.4. LESIONS ESCLERODERMIFORMES.

Les lesions esclerodermiformes de la pell dels malalts amb *Porfiria cutanea tarda* mostren, a més de l'anteriorment descrit, atròfia epidèrmica amb augment de la melanina de la membrana basal, banda subepidèrmica de teixit connectiu homogeni i edematòs (Brunsting, 1954; Jablonska i Szczepanski, 1963; Köstler *i cols*, 1988; Simon *i cols*, 1977), una dermis marcadament engruixida, però amb col·lagen distribuït de manera més solta que en l'esclerodèrmia veritable, fibres de col·lagen parcialment inflades, de gruixos diferents (Köstler *i cols*, 1988), fibres elàstiques fragmentades, i atròfia d'annexos, essent tot el quadre pràcticament indistingible de la fase tardana de l'esclerodèrmia veritable (Grossman, 1979; Jablonska i Szczepanski, 1963; Potter *i cols*, 1964; Scholnick i Brooks, 1977; Wolff *i cols*, 1982).

L'infiltrat inflamatori que acompanyen aquestes lesions ha estat escàsament comentat a la literatura. Es descriu ocasionalment la presència de cel·lularitat mononuclear poc intensa (Kemmer *i cols*, 1988). Menció especial s'ha fet re-

centment sobre la presència de mastòcits a la pell fotoexposada dels malalts amb *Porfiria cutanea tarda*. Toriunuki *i cols* (1989) descriuen un augment significatiu de la densitat de mastòcits respecte els controls sans.

1.3.2.- ULTRAESTRUCTURA.

1.3.2.1. PELL CLINICAMENT AFECTADA.

A l'epidermis s'observen canvis a nivell de la capa basal amb pèrdua de la cohesió intercel.lular i amb la membrana basal subjacent. Els hemidesmosomes tendeixen a la desaparició amb ampliació dels espais intermitjos entre les cèl.lules basals i la membrana basal. El contingut citoplasmàtic es veu més dens amb alteració de les organel·les citoplasmàtiques, vacuolització i disminució del nombre de tonofilaments i anisocitosi. Les capes epidèrmiques més altes es veuen afectades en menor intensitat, no observant-se alteracions cel.lulars en la capa de Malpighi ni a la capa còrnia (Kint i de Weert, 1978; Kemmer *i cols*, 1988). Les cèl.lules endotelials s'han descrit com a normals (Kint i de Weert, 1978; Poh-Fitzpatrick, 1986) o picnòtiques amb vesícules pinocitòsiques i laxitud de les unions intercel.lulars (Kemmer *i cols*, 1988), fins i tot a la fase aguda, a diferència del que s'observa amb altres porfíries com la PPE on a la fase aguda hi ha un dany massiu dels endotelis capilars de la derma superior, amb citoplasmes vacuolats condensats en files de filaments densament empaquetats, organel·les flades i nuclis condensats junt amb la presència de degranulació de mastòcits (Schnait *i cols*, 1975).

Les butllofes mostren un nivell de clivatge variable. S'ha descrit el clivatge a nivell dèrmic superior amb la membrana basal unida al sostre de la mateixa (Wolff *i cols*, 1982), junt amb restes de material de dermis superficial. Més habitualment, la fisura es forma a nivell sub-epidèrmic, quedant la membrana basal adherida al terra de la butllofa, junt amb la presència d'alguns queratinòcits aïllats. No s'observa la presència de fibrina a la unió dermo-epidèrmica (Caputo *i cols*, 1983; Perrot *i cols*, 1972).

1.3.2.2. PORFIRIA CUTANEA TARDA CRONICA.

En les fases cròniques la microscopia electrònica mostra a *pell exposada* de malalts amb *Porfíria cutanea tarda* canvis semblants a altres porfíries amb manifestacions cutànies. S'observa reduplicació de la làmina basal epidèrmica i dels vasos sanguinis superficials, i dipòsit d'un material finament fibril·lar als espais perivasculars, amb presència ocasional de grumolls de material electrodens, així com un augment de la proliferació fibroblàstica (Epstein *i cols*, 1973; Nonaka *i cols*, 1975; Prisco i Rosas, 1973; Wolff 1982).

1.3.2.3. PELL FOTOPROTEGIDA.

A la *pell protegida* aquests canvis es troben en molt menor intensitat (Epstein *i cols*, 1973). La membrana basal s'ha descrit com contornejada formant bucles o meandres, parcialment duplicada o triplicada, amb zones electro-denses no relacionades als hemidesmosomes. A la capa basal s'observen espais intercel·lulars allargats amb alguns desmosomes trencats, però amb hemidesmosomes nor

Els tonofilaments formen acúmuls compactes i molt densos, situats amb freqüència perpendicularment a la unió dermo-epidèrmica.

Les organel·les intracel·lulars s'observen poc modificades però amb vacuoles freqüents. Els melanosomes s'han descrits augmentats en major nombre i distribuïts per la capa basal i capes inferiors de l'epidermis. La derma superficial mostra l'augment del material filamentós i granulós, amb algunes fibres de col·lagen aïllades, qualitativament semblant al de la pell normal (Perrot *i cols*, 1972).

1.3.2.4. LESIONS ESCLERODERMIFORMES.

En la *Porfiria cutanea tarda* s'ha comprovat que existeix una activitat metabòlica augmentada dels fibroblasts dèrmics de la pell esclerodermiforme junt a un augment de la densitat del col·lagen. Els fibroblasts tenen nuclis granulars, retícul endoplàsmic rugòs i cisternes dilatades prominents, amb algunes vacuoles, i plegament de la membrana cel·lular (Parra i Pizzi de Parra, 1979).

Les fibres de col·lagen de la derma d'individus sans estan formades per molècules de col·lagen del tipus I i del tipus III. Aquestes dues molècules es poden trobar formant part de totes les fibres de col·lagen de la dermis (Keene *i cols*, 1987), encara que en diferents proporcions segons la mida de les fibres. Les fibres amb col·lagen de molècula tipus I constitueixen el 85% del col·lagen total (Gay *i cols*, 1980), són fibres de 60 - 80 nanòmetres de diàmetre, i es troben dipositades a totes les capes de la dermis en forma de grans feixos (Gay i Miller, 1978).

Les fibres de col.lagen de molècula tipus III constitueixen el 15% restant (Gay *i cols*, 1980), i estan situades primordialment a la dermis papil.lar i periannexial, i en molt menor proporció a la dermis reticular (Meigel, 1977). Les fibres formades per aquest col.lagen tenen uns diàmetres entre 20 i 40 nm (Gay i Miller, 1978), arribant fins als 60nm, segons alguns autors (Fleischmajer *i cols*, 1978; Perlish *i cols*, 1988).

Es considera que el diàmetre mig de les fibres de col.lagen a la pell normal varia de 75 a 130 nm (Hashimoto, 1967), havent-se dit que existeixen variacions quant a l'edat. Així, a la dermis fetal hi hauria fibres de petita mida per una major proporció del col.lagen de molècula tipus III, disminuint aquesta proporció ràpidament durant la infància i l'edat adulta (Oikarinen, 1990). Wolpers ja indicava que les fibres de col.lagen de la gent jove són més primes que les dels individus d'edat, sense existí, però, una diferència significativa (Gross i Schmitt, 1948).

Aquesta diferència en la mida dels diàmetres per raó d'edat s'acompanya d'un canvi en les propietats físiques de les fibres de col.lagen, d'una disminució de la quantitat total de col.lagen (Kulozik i Krieg, 1989); i d'un augment en la proporció d'enllaços creuats irreductibles (De Campos i de Carvalho, 1990). El trobar proporcions elevades d'enllaços irreductibles i, per tant, de fibres de majors diàmetres, s'ha relacionat amb la maduració del col.lagen. Les fibres de col.lagen formades de nou amb enllaços reductibles, no són estables, i tendeixen a ser substituïdes per fibres més estables d'enllaços irreductibles. S'ha descrit la seva presència en proporcions majors al normal en alguns processos, tals com la Diabetis mellitus (James, 1991; Hanna *i cols*, 1987) i l'esclerodèrmia (Herbert *i*

cols, 1974).

Per altra banda, a les lesions esclerodermiformes de la *Porfiria cutanea tarda* s'ha descrit la presència de fibres de menor mida semblants a les que es troben també a la morfea o a l'esclerodèrmia (Simon i cols, 1986).

La mescla d'una alta proporció de fibres de petita mida entremig de fibres de mida normal a la dermis, s'ha anomenat com a *distribució bimodal* (Fernando i Movat, 1963) i s'ha considerat com a signe d'una fibril·logènesi activa (Fernando i Movat, 1963).

La *distribució bimodal* també ha estat observada a les lesions esclerodermiformes de la *Porfiria cutanea tarda* sense comprovar-se alteracions en l'estructura de les fibres (Parra i Pizzi de Parra, 1979). Els valors referits per aquest autor per als diàmetres d'aquestes fibres varien entre $33,5 \pm 4,7$ nm i $68,7 \pm 7,8$ nm, amb una mitjana de $67 \pm 10,6$ nm. Xifres totes elles inferiors que les que troba a pell normal d'individus sans.

Kint i de Weert (1978) descriuen la presència de fibres de diferents grossàries a dermis papil·lar, amb diàmetres entre 50 i 110 nm, i fibres de diàmetre normal a dermis reticular.

Simon i cols (1986) troben que les fibres de col·lagen presenten variacions del diàmetre semblants a les que s'observen en l'esclerodèrmia, amb fibres petites de 10 a 30 nm de diàmetre, i que aquestes alteracions segueixen observant a les fases de remissió bioquímica de la malaltia.

1.3.3.-INMUNOPATOLOGIA.

1.3.3.1. INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA.

Estudis per immunofluorescència directa han demostrat el dipòsit homogeni i intens d'immunoglobulines IgG i C3, a nivell perivascular de dermis papil·lar i, en menor intensitat, a la unió dermo-epidèrmica de la *pell exposada* de malalts amb *Porfiria cutanea tarda* activa, sobretot, i d'altres porfíries amb manifestacions cutànies, mentre que a *pell protegida* ha estat ocasionalment positiva a nivell perivascular, i sempre negativa a la unió dermo-epidèrmica. Aquest fenomen no ha estat considerat com un testimoni d'una patogènia autoimmune, tal com s'explica posteriorment (Cormane *i cols*, 1971; Epstein *i cols*, 1973; Kemmer *i cols*, 1988; Köstler *i cols* 1988; Lim i Gigli, 1981a i 1981b; Maynard i Peters, 1992; Tio Tiong *i cols*, 1971; Wolff *i cols*, 1982).

1.3.3.2. INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA.

La immunofluorescència indirecta ha detectat factors del complement a la paret vascular i de la unió dermo-epidèrmica de la *pell exposada*, però no a *pell protegida*, així com tampoc no ha detectat anticossos circulants a antígens vasculars, ni a la unió dermo-epidèrmica (Cormane *i cols*, 1971; Epstein *i cols*, 1973; Wolff *i cols*, 1982).

1.4. PATOGENESI

1.4.1.- PATOGENESI DE LA FOTODERMATOSI.

1.4.1.1.- TEORIA DE LA FOTO-OXIDACIO.

Les porfirines, per la seva estructura tetrapirròlica molecular, són unes substàncies químiques absorbents d'energia lumínica. Aquesta absorció d'energia converteix a molècules de porfirina, bàsicament estables, en compostos inestables amb emissió d'electrons, des dels seus orbitals d'estat estacionari a orbitals de major energia. Si aquesta transferència d'electrons es fa efectiva, l'estat excitat resultant s'anomena *singlet*. Si aquesta emissió s'efectua acompanyada d'un canvi en la direcció del *spin* de l'electró, aquest estat excitat es denomina *triplet*.

Aquests dos tipus de molècules, obtingudes del resultat de la captació d'energia lumínica, són molècules inestables que poden descarregar part de la seva energia per varis sistemes. Un dels mecanismes pot ser l'emissió d'energia com a fluorescència, un segon mecanisme pot ser l'alliberació d'energia calòrica o vibracional; i un tercer pot ser la transferència de l'energia a molècules acceptores apropiades. Una de les molècules receptores d'energia que sembla exercir un paper important en les reaccions de fotosensibilització de la porfirina és l'oxigen. Aquest sembla, al seu temps, ser un agent oxidant de compostos de gran importància biològica, lípids, colesterol i certs aminoàcids (Kohn i Kessel, 1979; Lim 1989b).

Els mecanismes fotodinàmics provoquen danys en diversos processos cel·lulars: peroxidació dels lípids de les membranes cel·lulars (Menon *i cols*, 1990; Simon *i cols*, 1975), dels enllaços creuats de les proteïnes intracel·lulars i de les membranes cel·lulars (Kohn i Kessel, 1979), inhibició dels enzims microsomals i de les funcions de transport, respiració i fosforilació (Coppola *i cols*, 1980); dany al DNA amb retard de la síntesi de proteïnes i del cicle cel·lular. La lisi d'òrganel·les intracel·lulars provoca l'alliberament de mediadors inflamatoris, i, finalment, en l'activació del complement amb generació de pèptids quimiotàctics derivats de l'acció de C5 (Bickers, 1986).

1.4.1.2.- TEORIA DEL DANY PRODUIIT PELS ENZIMS LISOSOMICS observats en la reacció de fototoxicitat de les porfirines (Allison *i cols*, 1966).

Aquesta teoria ha quedat actualment qüestionada, ja que s'ha comprovat que les hidrolases lisosòmiques que s'alliberen durant el curs de la reacció de fototoxicitat, ho fan a fases tardanes, i no a l'inici de la reacció (Sandberg, 1981a; Wakulchik *i cols*, 1980).

1.4.1.3.- TEORIA DE LA SOLUBILITAT.

La diferent resposta fototòxica que s'observa en les porfries ve donada probablement per una diferent afinitat de les porfirines per a les zones dianes, i degut això últim a la seva diferent solubilitat. La URO, amb els vuit grups carboxílics incorporats a la seva molècula central, presenta major hidrosolubilitat que les altres porfirines (Kohn i Kessel, 1979; Sandberg i Romslo, 1981a i 1981b; Sandberg *i cols*, 1982).

Aquesta major hidrosolubilitat faria que aquesta porfirina manifestés afinitat per elements sanguinis sèrics (proteïnes plasmàtiques) i cel·lulars específics (enzims citosòlics i triptofan), diferents dels que poden ser afectats per altres porfirines amb major hidrofobicitat com la protoporfíria (colesterol, per ex.) (Sandberg i Romslo, 1981a i 1981b; Sandberg *i cols*, 1982).

Aquesta teoria explicaria que es produís unes manifestacions histopatològiques i clíniques diferents, depenent del tipus de porfirina (hidrófilica o lipofílica) acumulada en les diferents porfíries.

1.4.1.4.- TEORIA INMUNOLOGICA.

Per immunofluorescència i histoquímica s'ha demostrat que es produeix el dipòsit perivascular de substàncies d'origen sanguini a la *pell exposada* de la *Porfíria cutanea tarda* (Cormane *i cols*, 1971; Epstein *i cols*, 1973; Lim i Gigli 1981a i 1981b).

Diversos autors han suggerit que l'acció dels mastòcits i l'activació del complement juguen un paper important en la patogènesi de les lesions cutànies de la *Porfíria cutanea tarda*. El contingut dels grànuls citoplasmàtics dels mastòcits cutanis és molt heterogeni i està compost primordialment de quantitats relativament grans d' heparina i histamina, així com substàncies vasoactives, factors quimiotàctics, enzims i proteoglicans. La histamina, mitjançant l'estimulació dels receptors H1, activa el quimiotaxisme dels neutròfils i dels eosinòfils, així com la síntesi de prostaglandines. Aquest productes actius poden ser alliberats

pels mastòcits per estímuls immunològics i no immunològics, com són els factors activats del complement i la irradiació amb ratjos UVA, respectivament (Hawkins *i cols*, 1986; Kumariki *i cols*, 1977; Kerdel *i cols*, 1987; Rothe *i cols*, 1990).

Lim *i cols* (1985) demostraren l'alliberament de serotonina en cultius de mastòcits irradiats, i ells mateixos, encara que reconeixen el paper dels mastòcits en l'acció fotosensibilitzant aguda de les porfirines en la *Protoporfiria eritropoiètica* (Lim 1989b), demostren que no es produeix l'alliberament de mediadors dels mastòcits en presència d'URO i radiació (Lim 1987). El diferent efecte de la radiació sobre els mastòcits podria, segons aquest autor, explicar les diferents síndromes que es donen en la *Porfíria cutanea tarda* i la *Protoporfiria eritropoiètica*.

Per altra banda, s'ha comprovat la presència de factors del complement en el líquid de les butllofes induïdes en malalts amb *Protoporfiria eritropoiètica* i en el sèrum de malalts amb *Protoporfiria eritropoiètica* i *Porfíria cutanea tarda* després d'haver-se exposat a la radiació solar (Lim *i cols*, 1981d; Lim *i cols*, 1984).

La irradiació amb UVA de sèrum d'animals o controls sans als que se'ls ha afegit porfirina; o la irradiació de sèrum de malalts amb *Porfíria cutanea tarda*, produeix l'activació del complement (Baart de la Faille *i cols*, 1978; Gigli *i cols*, 1980; Lim *i cols*, 1981a; 1981b; 1981c; 1981d; 1984; 1987; Pigatto *i cols*, 1985 i 1986), mentre que no es produeix aquesta activació en els malalts amb *Porfíria cutanea tarda* inactiva o en remissió (Meurer *i cols*, 1985).

Aquesta activació generaria mediadors quimiotàctics actius (C5) per als polimorfonuclears, amb la subseqüent resposta inflammatòria per neutròfils i mastòcits, i l'alliberació dels neutròfils de radicals d'oxigen lliure en la forma d'anions superòxids (Lim *i cols*, 1981c; 1981d; 1984; Pigatto *i cols*, 1986; Poh-Fitzpatrick 1986).

Això concordaria amb l'espectre histològic que s'observa en la fase aguda de la fototòxia de les porfíries, sobretot a la *Protoporfiria eritropoiètica*, i explicaria la presència de dipòsits de C3 a la unió dermo-epidèrmica i a les parets engruixides dels capil·lars de la dermis superior (Baart de la Faille 1975; Cormane *i cols*, 1971; Epstein *i cols*, 1973; Köstler *i cols*, 1988).

Per altra banda, la presència de mediadors enzimàtics excretats pels mastòcits, tals com proteinases semblants a la quimiotripsina, explicaria el que es produïssin les vesícules i la fragilitat cutània tan característiques de la *Porfíria cutanea tarda* (Lim, 1989b).

L'afectació endotelial a la *Porfíria cutanea tarda* havia estat negada en un principi, (Kint i de Weert, 1978). Actualment se sap aquesta afectació es produeix, encara que de manera molt més discreta que les alteracions histopatològiques de les porfíries de síndrome aguda (Köstler *i cols*, 1988). El detectar el dany endotelial confirmaria la creença, de que a la *Porfíria cutanea tarda* els mecanismes de la fase aguda són funcionals al igual que a la *Protoporfiria eritropoiètica*, però a nivells subclínic (Poh-Fitzpatrick 1986a).

El desenvolupament dels diversos patrons de fototoxicitat produïts per les porfirines poden dependre, doncs, no solament de l'eficàcia inicial dels aconeximents fototòxics directes, sinó també d'una diferència quantitativa dels mediadors inflamatoris secundaris.

Kamide *i cols* (1984) en un estudi realitzat en animals, conclouen que la resposta fototòxica induïda per les porfirines, en el cas que ell estudia, l'HEMO, conjuntament amb la radiació per UV, consistiria en una fase humoral inicial que afectaria al mateix temps a la fotoactivació del sistema del complement i als mediadors derivats dels mastòcits, ambdós necessàriament funcionalment intactes, en actuació sinèrgica amb altres fenòmens biològics, com la generació d'espècies tòxiques d'oxigen, els metabòlits de l'àcid araquidònic i l'alliberament d'enzims lisosòmics.

Aquests estudis explicarien la diferència clínica i estructural que s'observa entre la *Protoporfíria eritropoiètica* i la *Porfíria cutanea tarda* (Kint i de Weert, 1978), però no la similitud histològica dels canvis crònics d'ambdós tipus de porfíria (Epstein *i cols*, 1973).

Una possible explicació per aquest fet podria ser el que s'extreu del treball de Ramsay *i cols* (1974) en la seva observació clínica de provocació de la mateixa simptomatologia depenent del temps de l'exposició dels malalts a una llum suficientment intensa, que el mecanisme d'acció patogènica sigui el mateix pels dos tipus de porfíria, com dedueix Poh-Fitzpatrick (1986a), però que aquestes manifestacions siguin només de manera subclínica en els malalts amb *Porfíria cutanea*

tarda, i per tant, aquests malalts no limiten el temps d'exposició a la llum solar, cosa que si passa amb els malalts amb *Protoporfiria eritropoiètica*, i per això pateixin un insult acumulatiu crònic insidiós, amb diferents manifestacions clíniques finals. De fet altres tipus de porfíries, com la *Protoporfiria eritropoiètica*, poden presentar engruiximent i liquenificacions cutànies després d'exposicions repetides a la llum solar.

1.4.2.- PATOGENESI DE LES LESIONS ESCLERODERMIFORMES A LA *Porfíria cutanea tarda*.

Les lesions esclerodermiformes dels malalts amb *Porfíria cutanea tarda* apareixen normalment al cap de varis anys d'evolució de la malaltia. El diagnòstic diferencial amb la veritable esclerodèrmia ve facilitat per la concomitància de signes clínics característics en la *Porfíria cutanea tarda*, així com l'alteració dels valors de porfirines a les anàlisis bioquímiques (Doyle i Friedman, 1983). Les lesions es produïrien per una alteració en el procés de maduració (Kint i de Weert, 1978), i/o a un acúmulo de col.lagen sintetitzat de nou, a nivell de la dermis (Parra i Pizzi de Parra, 1979).

S'han indicat varis mecanismes possibles per aquest augment de col.lagen a aquest nivell.

1.4.2.1.- TEORIA CLINICA.

Per un efecte acumulatiu de tipus regeneratiu i que segueix als episodis aguts repetits de fragilitat, bullosis i fotosensibilitat (Doyle i Friedman,

1983; Grossman i Poh-Fitzpatrick, 1986). Aquesta teoria, encara que sembla ser certa en el cas de la PEC i la PHE, no explicaria, però, el perquè pot veure's lesions esclerodermiformes a àrees no exposades al sol, i la poca afectació d'aquestes lesions a nivell de les mans, zona de gran importància clínica dels episodis aguts.

1.4.2.2.- TEORIA VEGETATIVA.

Jablonska i Szczepanski (1963) havien suggerit que, donada la gran similitud histològica i funcional d'aquests tipus de lesions amb les de la veritable esclerodèrmia en fase regressiva, podia haver un terreny favorable en ambdues malalties bàsicament a nivell del sistema vegetatiu nerviós.

1.4.2.3.- TEORIA FIBRIL·LOGENICA.

Varigos *i cols* (1982) en estudis efectuats en cultius cel·lulars amb fibroblasts normals que havien estat tractats amb URO i/o UVA va comprovar que la URO, per ella mateixa, posseeix una acció estimuladora de la biosíntesi de col·lagen, la qual cosa explicaria el fet clínic confirmat per alguns autors, de que les lesions esclerodermiformes a la *Porfiria cutanea tarda* milloren quan les xifres d'URO retornen a la normalitat (Ramsay *i cols*, 1974; Epstein i Redeker, 1968).

Posteriorment, Nunzi *i cols* (1983) han descrit la formació de cicatrius hipertròfiques associades a l'administració d'hematoporfirina subcutània.

1.4.2.4.- TEORIA INMUNOLOGICA.

Hi ha a la literatura nombroses referències sobre l'acció dels mastòcits en relació amb els processos fibròtics. Encara que el nombre exacte de mastòcits a dermis no s'ha pogut determinar amb exactitud, ja que no hi ha uniformitat a l'hora de donar els resultats (Mikhail i Miller-Milinska, 1964; Marshall *i cols*, 1987), s'ha comprovat que no es produeixen variacions per edat o sexe (Marshall *i cols*, 1987), però sí que existeixen diferències segons la situació de les cèl.lules a la dermis i la zona corporal estudiada. Així, es coneix des de fa temps que els mastòcits es situen periannexialment i perivascular, trobant-se en major nombre a la dermis papil·lar (Binazzi i Rampichini, 1959; Cowen *i cols*, 1979); i que hi ha major densitat de mastòcits a regió cefàlica i genital, que a cos i extremitats (Binazzi i Rampichini, 1959; Marshall *i cols*, 1987). Les diferències es deuen en gran part a l'aplicació de les tècniques tintorials i de recompte emprades (Nishioka *i cols*, 1987; Cowen *i cols*, 1979; Marshall *i cols*, 1987).

Se sap que existeix un augment local de mastòcits associada a la presència d'inflamació crònica i amb el dipòsit de teixit connectiu, que cedeix quan el procés inflamatori disminueix i s'instaura la fibrosi (Asboe-Hansen, 1959; Atkins i Clark, 1987; Claman, 1989b; Falanga *i cols*, 1989; Hawkins *i cols*, 1985; Seibold *i cols*, 1990).

La sola presència, encara que augmentada, de mastòcits en els processos inflamatoris crònics, no explica el fet de que aquestes cèl.lules siguin les responsables de la fibrosi ulterior que es produeix, ja que es coneix l'absència de fibrosi en les mastocitosis i en teixits

neoplàsics infiltrats per aquestes cèl.lules (Claman, 1990). La interpretació d'aquest fet clínic podria raure en la diferència entre la presència de mastòcits i la degranulació dels mateixos en regions d'inflamació crònica (Atkins i Clark, 1987), o bé, en l'existència de diferents subpoblacions de mastòcits a nivell de la dermis humana (Courtoy i Boniver, 1989; He *i cols*, 1990; Rothe *i cols*, 1990).

S'ha comprovat una interrelació entre els mastòcits i els fibroblasts en varis estudis (Subba Bao *i cols*, 1983), havent-se demostrat en cocultius cel.lulars que els mastòcits són capaços de estendre pseudòpodes carregats amb grànuls i transferir-los als fibroblasts (Courtoy i Boniver, 1989), i que aquests últims proliferen de 4 a 6 vegades més que els fibroblasts cultivats aïlladament (Rothe i Kerdel, 1991).

Els grànuls dels mastòcits contenen histamina i triptasa (la qual indueix la proliferació dels fibroblasts), a part d'altres factors que augmenten la síntesi de col.lagen (Fertin *i cols*, 1991; Ruoss *i cols*, 1991); i .cp3 factors que també afavoreixen la seva lisis (Krejci *i cols*, 1992; Yoffe *i cols*, 1984).

A la *Porfiria cutanea tarda* hi ha autors (Torinuki *i cols*, 1989) que també troben un augment de la densitat de mastòcits en la pell exposada de malalts, en comparació amb lesions d'esclerodèrmia establertes i controls sans.

Recentment s'ha comprovat que els mastòcits sintetitzen i secreten quantitats importants de col.lagen IV i cadenes de laminina, el qual in-

dica que poden contribuir en la reparació i/o sobreproducció dels components de la membrana basal. Això explicaria l'engruiximent de la paret vascular i de la membrana basal dermo-epidèrmica que s'observa en els processos fibròtics (Thompson *i cols*, 1991).

1.5. COMPARACIO AMB ALTRES PROCESOS FIBROSOS CUTANIS.

1.5.1. ESCLERODERMIA.

L'esclerodèrmia és un procés immunològic de causa desconeguda, que es caracteritza per una fibrosi tisular i una vasculopatia difusa.

La lesió inicial es produiria a nivell dels capil.lars de la dermis papil.lar, on s'ha descrit la proliferació i posterior destrucció dels endotelis (Fleischmajer, 1976; LeRoy, 1982). Més tard, es desenvolupa una vasculitis en el teixit subcutani, amb un infiltrat inflamatori de cèl.lules mononuclears, principalment, limfòcits T (Fleischmajer, 1972b i 1977; LeRoy, 1982); i secundàriament es produeix un augment en el nombre de mastòcits (Rothe i Kerdel, 1991).

La fibrosi es desenvolupa posteriorment, i sembla evident, que els limfòcits (Kahaleh i LeRoy, 1989), i sobretot, els mastòcits hi juguen un paper important (Claman, 1989b; Takeda *i cols*, 1989).

El nombre de mastòcits que s'observen depenen del grau de fibrosi instaurada (Hawkins *i cols*, 1985; Nishioka *i cols*, 1987). Així s'ha vist que en les fases inicials de la malaltia el nombre total de mastòcits a nivell papil.lar és semblant al que es troba en mostres de controls sans, mentre que en fases més avançades el nombre total de mastòcits està

clarament augmentat. En les fases tardanes, per altra banda, el nombre de mastòcits, així com la seva degranulació (Seibold *i cols*, 1990) disminueix significativament.

Claman (1989a) descrigué el cas d'una malalta amb una esclerodèrmia aguda de ràpida progressió, en el que demostrà per ultraestructura la participació activa dels mastòcits en la patogènia de les lesions fibròtiques de la malalta. El mateix autor havia demostrat anteriorment, de manera experimental, que el nombre de mastòcits es redueix en les fases tardanes d'esclerosi d'un procés molt semblant a l'esclerodèrmia humana, com és l'entitat semblant a la malaltia d'*hoste contra injert* en els ratolins (Claman, 1985).

Secundàriament a la fase inflamatòria, es produeix un augment de la biosíntesis de col.lagen (Buckingham *i cols*, 1978; Krieg *i cols*, 1977; LeRoy, 1972 i 1974). Aquest augment, iniciat primerament a la zona de la hipodermis, progressa fins a les capes més superficials de la dermis (Doyle *i cols*, 1982; Fleischmajer *i cols*, 1972b; 1981 i 1983; Parra i Pizzi de Parra, 1979; Rupec 1964) i condueix a la fibrosi massiva de la dermis (Fleischmajer 1972b; Fleischmajer *i cols*, 1983).

Les fibril·les de col.lagen sintetitzades de nou mantenen la seva estructura normal, però presenten una gran proporció d'enllaços creuats reductibles (Herbert *i cols*, 1974). Els diàmetres detectats varien considerablement, segons el nivell de la dermis (Fleischmajer i Pruniera, 1972a; Fleischmajer *i cols*, 1972b; Kobayasi i Asboe-Hansen, 1972 i 1974; Parra i Pizzi de Parra, 1979) i la fase de la malaltia (Fleischmajer

i cols, 1978).

La síntesi de col.lagen es produeix, bàsicament, a expenses de fibres de petita de molècula de col.lagen tipus III (Fleischmajer *i cols*, 1978; Hayes i Rodnan, 1971; Perlish *i cols*, 1988), encara que altres autors, malgrat confirmar la major síntesi de col.lagen, no observen diferències en els percentatges d'ambdòs tipus de molècules (Krieg *i cols*, 1981; Lovell *i cols*, 1979; Uitto *i cols*, 1979).

Quan el col.lagen ha substituït tot el teixit gras subcutani les fibres inmadures poden quedar permanentment de petit diàmetre, o bé madurar acceleradament amb la formació d'enllaços creuats irreductibles i formar agregacions de fibres de gran diàmetre, tal com es troba a les plaques més antigues i inactives (Fleischmajer *i cols*, 1972b; Herbert *i cols*, 1974).

1.5.2.- DIABETIS.

A la literatura s'ha comentat repetidament que la Diabetis mellitus o la intolerància a la glucosa poden ser factors predisponents o cocausals d'una *Porfíria cutanea tarda* (Burnham i Fosnaugh, 1961; Enríquez de Salamanca *i cols*, 1982; Malina i Chlumsky, 1978; Salgado *i cols*, 1983; Topi i D'alessandro Gandolfo, 1978); o d'una esclerodèrmia (Fleischmajer i Faludi, 1969; Fleischmajer *i cols*, 1972b).

A la Diabetis mellitus es descriu un engruiximent cutani semblant a l'escleredema (Seibold, 1982). Hanna *i cols* (1987) demostren per ultraestructura que aquest procés, s'inicia també a nivell de la dermis reticular inferior, on es produeix un acúmul de fibres de col.lagen de gran

mida, no observant, aquests autors, la presència de fibres inmadures de petita mida, ni una distribució bimodal.

Aquests canvis s'han atribuït a un augment de la biosíntesi del mateix, amb una prematura polimerització intracel·lular (Hanna *i cols*, 1987), a més d'una excessiva glicosilació i formació d'enllaços creuats irreductibles de les fibres de col·lagen (Asha-Rathi, 1989; Brennan, 1989).

1.5.3.- IRRADIACIO.

El Nabout *i cols* (1989) demostraren que en cultius de fibroblasts animals de mostres fibròtiques postirradiació gamma es produïa un augment significatiu de la biosíntesi de col·lagen, i preferentment, del col·lagen de molècula tipus III.

1.5.4.- HELIODERMATITIS CRONICA.

La similitud de les lesions de la pell fotoexposada dels malalts amb *Porfiria cutanea tarda*, amb el fotoenvelliment ha estat un fet repetit a la literatura (Brunsting, 1954; Brunsting i Mason, 1949; Tosti i Villardita, 1971; Kint i de Weert, 1978).

Malgrat que no se sap amb certesa els mecanismes fotoquímics ni les regions de longitud d'ona més actives en produir la degeneració dèrmica, queda bastant clar que solament exposicions repetides i per llargs períodes de temps poden conduir a un dany acumulat que accelera el procés normal de l'envelliment (Farr i Friedman, 1986). El fotoenvelliment i l'envelliment cronològic difereixen qualitativament (Ep-

stein, 1983; Gilchrest *i cols*, 1983)

Estudis experimentals en animals model han confirmat que els UVB són responsables de la destrucció del teixit connectiu dèrmic observat en el fotoenvelliment; i que els UVA i els infrarojos contribueixen significativament provocant l'aparició de l'elastosi. Aquesta estaria directament relacionada amb la intensitat i amb l'acúmulo de l'exposició solar, podent reduir-se si s'evita la radiació (Kligman, 1986).

A la pell fotoenvellida s'observa atròfia epidèrmica i augment de la melanina a la membrana basal. A la dermis es descriu dilatació dels capil·lars i un gran augment de la substància fonamental formada per proteoglicans i glicosaminoglicans (Braverman i Fonferko, 1982b; Sams, 1986), a l'inrevés del que s'observa a la pell envellida cronològicament (Kligman, 1986; Uitto *i cols*, 1989).

En els estadis preelastòtics del dany actínic (Lavker, 1988) de les pells sotmeses a la irradiació amb UVA es descriu la presència d'un infiltrat limfohistiocitari amb augment del nombre de mastòcits i la seva degranulació, dipòsits de fibrina i canvis als fibroblasts (Braverman i Fonferko, 1982b; Kumariki *i cols*, 1977).

S'ha remarcat també aquí, el paper dels mastòcits en l'etiopatogènia del fotoenvelliment. S'ha vist que la presència de mastòcits en graus variables de degranulació és una característica invariable de la dermis actínicament malmesa (Braverman i Fonferko, 1982b; Kligman 1986; Lavker, 1988). L'heparina que secreten els grànuls dels mastòcits seria la que activaria els factors de creixement fibroblàstic (Claman, 1990).

Es descriu també de manera constant la presència d'un infiltrat inflamatori perivascular de baixa intensitat, que quedaria normalment a nivell subclínic (Lavker, 1988), i que comportaria a la llarga la digestió enzimàtica del col·lagen (Kligman, 1989b).

A part dels canvis reconeguts de les fibres elàstiques, amb la formació de l'elastosi i elastogènesi (Braverman i Fonferko, 1982b; Chatterjee *i cols*, 1990; Kligman, 1986; Lavker, 1979; Montagna i Carlisle, 1979 i 1990; Uitto *i cols*, 1989), es produeixen alteracions del col·lagen dèrmic. Els canvis més importants es manifesten a nivell de la dermis papil·lar. A aquest nivell s'ha vist que els microfilaments són substituïts per fibril·les de col·lagen densament empaquetades, de distribució col·lineal, paral·leles a la superfície, d'igual manera que el que s'observa en les cicatrius, havent-se-la anomenat zona *Grenz*, (Lavker, 1979; Montagna *i cols*, 1989; Smith, 1989). Aquesta disposició del col·lagen dèrmic al fotoenvelliment contrasta amb el que s'observa a la pell de la gent gran on els feixos de col·lagen es mostren com a agregats de fibres rígides, escasament lligades (Lavker *i cols*, 1986).

La mida de les fibres de col·lagen de les pells amb heliodermatitis crònica no s'havia relacionat clarament a la literatura fins l'actualitat.

Montagna *i cols* (1989), descriuen feixos de fibres molt petites a dermis papil·lar. A la capa que anomenen intermitja, entre la dermis papil·lar i la dermis reticular, descriuen fibres de diàmetre mig, i finalment a la dermis reticular observen fibres de diàmetre gran amb algunes fibres de diàmetre mig.

A la dermis reticular dels animals exposats a la radiació UV es veuen fibres de col.lagen parcialment disoltes, amb disminució del col.lagen total, possiblement per l'efecte enzimàtic del infiltrat mononuclear (Kligman, 1989b), i nombroses fibres de petita mida sintetitzades de nou, predominantment de molècula tipus III (Kligman, 1986; Plastow *i cols*, 1987; Schwartz, 1988), encara que hi ha autors que indiquen que la síntesi de col.lagen es produeix a expenses d'ambdues molècules de col.lagen per igual (Oikarinen i Kallioinen, 1989; Schwartz *i cols*, 1988).

Zheng i kligman (1993) han apuntat recentment que les fibres de col.lagen de la pell irradiada amb UVA mostren diàmetres més petits que els de la pell no irradiada (70-120nm vs 90-140nm), i que les mides d'aquestes fbres són encara més petites si la irradiació s'efectua amb UVB (45-120nm).

La destrucció i reparació del teixit connectiu dèrmic es produeix al mateix temps (Kligman, 1989b). En animals d'experimentació s'ha comprovat que el dany produït pels UVB es resol al suspendre la irradiació, mentre que no succeeix el mateix amb els UVA (Bissett *i cols*, 1987).

1.5.5. SINDROMES ESCLERODERMIFORMES TOXIQUES.

En aquest terme es podria englobar aquelles síndromes provocades per substàncies químiques exògenes i que produeixen manifestacions esclerodermiformes, a més d'alteracions neuromusculars i pulmonars, i que es caracteritzen per una eosinofília i augment sèric dels productes

de degranulació dels mastòcits.

En aquest grup d'entitats s'hi inclouria els quadres esclerodermiformes produïts per la sílice (Haustein *i cols*, 1990; Rodman *i cols*, 1967), per disolvents aromàtics (Owens i Medsger, 1988), per l'oli de colza desnaturalitzat (TES, 1982), per la ingesta de certes partides de L-triptofan, el qual es coneix com a síndrome eosinofília-miàlgia (Belongia *i cols*, 1990; Clauw *i cols*, 1990; Kaufmann *i cols*, 1990; Lin *i cols*, 1992; Slustker *i cols*, 1990) i per la implantació de pròtesis de silicona (Sahn *i cols*, 1990; Spiera, 1988; Vargas i Jimenez, 1991).

L'estudi histopatològic d'aquestes entitats mostra una vasculitis dels petits vasos superficials i profunds, amb un infiltrat de cèl.lules mononuclears, amb acúmuls de mastòcits a dermis, quantitats variables de glicosaminoglicans, i fibrosi de la dermis. No hem trobat a la literatura estudis ultraestructurals del col.lagen en aquests casos.

OBJECTIUS

2. OBJECTIUS

El departament de Dermatologia del Hospital Clínic i Provincial de Barcelona ha estudiat des 1969 fins 1992, els casos de 652 malalts amb *Porfiria cutanea tarda* comprovada clínicament i bioquímica, dels quals, prop d'un 12% han presentat lesions esclerodermiformes.

Com s'ha vist en els apartats precedents, diferents autors han estudiat la patogenia i estructura de les lesions esclerodermiformes a la *Porfiria cutanea tarda*, encara que no s'ha definit exactament el perquè d'aquesta forma clínica de porfíria, respecte a les de les altres porfíries. Així mateix s'ha comprovat l'existència d'una relació entre els mastòcits i diferents processos fibròtics.

Aquest treball de tesi doctoral consisteix en aconseguir major informació sobre:

- a) El paper que juguen les porfirines i/o la radiació solar en el desenvolupament de les lesions cutànies de fibrosi de la *Porfiria cutanea tarda*.
- b) El paper dels mastòcits el desenvolupament de la fibrosi a la *Porfiria cutanea tarda*.
- c) Els canvis físics del col.lagen que conforma l'estructura d'aquestes lesions.

Per aconseguir aquests punts es realitzaran una relació dels següents apartats:

- a) Comparació de les troballes histològiques amb les ultraestructurals de *pell protegida* i *pell exposada*.
- b) Valoració de les densitats de mastòcits a *pell protegida* i *pell exposada* en relació als paràmetres clínics.
- c) Comparació dels diàmetres i nombre de fibres a *pell protegida* i *pell exposada* en relació amb els paràmetres clínics.

METODOLOGIA PREPARATIVA

3. METODOLOGIA PREPARATIVA.

3.1. MALALTS ESCOLLITS.

S'escolliren onze malalts amb PCT comprovada clínicament i bioquímica en fase activa, no tractats específicament en el darrer mig any. Nou d'ells presentaven lesions esclerodermiformes.

Els valor de les porfirines detectades a orina i femta definien clarament el patró de la PCT (Taula 1 i 2).

A l'orina es detectava principalment URO amb valors marcadament alts que anaven des dels 1890 als 6228 ug/24h, amb una mediana de 2341 ug/24hores (mitjana 2871 ± 1688).

La COPRO es detectava en valors normals en quatre dels malalts, essent moderadament alta en els altres set malalts. Els valors oscil.laven des de 95 fins a 916 ug/24h, amb una mediana de 372 ug/24h (mitjana $385,18 \pm 227,34$).

Les xifres de la PBG i de l'ALA es trobaven dintre de la normalitat en tots els casos estudiats.

A la femta la PROTO era normal en vuit malalts i alterat en els altres tres malalts, essent la xifra més alta de 194 ug/g de femta, amb una mediana de 72 ug/g (mitjana $91 \pm 52,16$).

La COPRO es trobava elevada en cinc dels malalts, essent els quatre malalts que mantenien xifres de COPRO normals a orina, els que presentaven les xifres de COPRO més baixes a la femta. La mediana dels valors era de 46 ug/g (mitjana $66,36 \pm 57,85$).

Les dades clíniques dels onze malalts inclosos en l'estudi estant reflectides a la taula 3.

Els onze malalts estudiats tenien edats compreses entre 33 i 76 anys d'edat, amb una mitjana d'edat de 52,36 anys \pm 15,25.

Tots ells presentaven clínica de PCT activa de temps d'evolució que anava dels 4 mesos fins els 100 mesos, amb una mitjana de 23,27 mesos \pm 27,5 (mediana 12 mesos).

Cap d'ells no havia rebut tractament previ la realització de la biòpsia, excepte el cas nº 2 que havia estat medicat amb antipalúdics de síntesi per espai de dos mesos mig any abans del seu estudi, i el cas nº 11 que s'havia automedicat amb bicarbonat per espai de dos mesos.

Sis dels nou malalts explicaven una ingesta enèdica important de més de 80g al dia, el qual és un factor etiològic reconegut per la majoria dels autors (taula 4).

Tots els malalts, excepte dos, mostraven alteració de les transaminases, presentant això sí tots alteració de la γ GT i biòpsia hepàtica amb canvis histopatològics compatibles amb hepatopatia crònica. La serologia luètica reagínica i la immunologia eren normals o negatives

3.2. OBTENCIO DE LES MOSTRES.

Es practicaren biòpsies de pell sana no exposada al sol de natja dreta (*pell protegida*), i de pell exposada al sol de dors de mà dreta (*pell exposada*).

Les peces obtingudes es dividien en dues porcions de mida aproximada de 0,3 cm de diàmetre.

Una porció es destinava per a estudi histopatològic i l'altra porció a estudi ultraestructural.

3.3. ESTUDI HISTOPATOLOGIC.

Les mostres obtingudes de *pell exposada* i *pell protegida* es fixaren amb formol tamponat al 10% per espai de 24 hores i es tenyiren amb tincions d'Hematoxilina-Eosina de Gills, tinció de PAS-D, Blau Alcà i Blau de toluidina.

Les mostres foren revisades per tres observadors independents.

3.3.1. VALORACIO DE LA FIBROSI.

Es realitzaren unes valoracions qualitatives referides a les alteracions del col.lagen que es valoraren segons els següents paràmetres:

La cel.lularitat no inflamatòria, que s'atribuí a cèlul.les residents, és a dir, els fibròcits.

Les característiques estructurals del col.lagen dèrmic, i.e. la densitat i disposició dels feixos de les fibres de col.lagen, així com la presència o no d'elastosi.

Amb aquest paràmetres s'intentà realitzar una valoració sobre el grau de fibrosi de les mostres estudiades, classificant-les com a:

-Sense fibrosi. Si el nombre de fibròcits semblava el normal i no s'apreciaven canvis estructurals del col.lagen dèrmic.

-Fibrosi inicial. Quan el nombre de fibròcits semblava estar augmentat, però no s'apreciaven alteracions estructurals del col.lagen, o bé s'observava alteració en la disposició dels feixos.

-Fibrosi establerta. Si havent o no un augment en el nombre de fibròcits, s'observava una densitat marcada del col.lagen

3.3.2. RECOMPTE DE MASTOCITS.

El recompte de mastòcits es realitzà a 400 augments utilitzant-se una reixeta de 0,2x2,0mm (Nishioka *i cols*, 1987), i es confirmà realitzant fotografies seriadades que cobrien la mateixa àrea, amb un total de 20 fotografies de 10 X 15cm, i que varen ser montades en llençol.

Les cèl.lules metacromàtiques es comptaven quan s'observaven nuclis cel.lulars a més dels grànuls metacromàtics, en deu camps lineals de 0,2mm a nivells cutanis diferents de 0,2 mm de profunditat cada nivell, començant a derma papil.lar (Torinuki *i cols*, 1989).

3.4. ESTUDI ULTRAESTRUCTURAL

La porció destinada a l'estudi ultraestructural es fixava amb glutaraldèhid durant 24 hores a 4°C de temperatura.

A continuació es tractaren amb tetròxid d'osmi al 2% en tampò cacodilat sòdic. La deshidratació es realitzà mitjançant sèries de rentats seriats amb etanol del 20 al 95%. Finalment es realitzaren tres rentats de 15 minuts amb etanol al 100%.

La inclusió s'efectuà primerament amb una solució al 50% d'Epon 812 i etanol per espai d'una hora, realitzant-se tres banys successius amb resina Epon 812 al 100% d'una hora de duració cadauna, i finalitzant-se amb l'adició d'una solució de resina Epon 812 amb enduridor per espai de 48 hores a 60°C de temperatura per a lograr la seva polimerització.

Seguidament es practicaren talls semifins i ultrafins de 600-800 Angstroms montats en reixetes de coure i tenyits en acetat d'uranil i citrat de plom per a ultraestructura (Lucky *i cols*, 1975), realitzada aquesta en un microscopi Philips 301 a 60Kv.

3.5. ESTUDI HISTOMORFOMETRIC.

La histomorfometria es realitzà mitjançant un requadre clar acoplat a un sistema d'anàlisi semiautomàtica (Videoplan-Zeiss), dotat de planímetre amb cursor, pantalla i ordinador AT.

Les mesures es realitzaren desplaçant el cursor sobre el taulell, resseguint l'estructura a mesurar, en augments de 3.500, 4.500 i 15.000, amb el punt lluminós del cursor.

Es mesurà el nombre de fibres per àrea donada i els diàmetres longitudinal i transversal de les fibres de col.lagen de 100 fibres i es calculà el diàmetre (D) mig mitjançant l'aplicació de la fórmula:

$$D \text{ Mig: } \frac{D \text{ Longitudinal} \times D \text{ Transversal}}{2}$$

Amb aquest dos valors es calculà el percentatge de reducció del diàmetre de les fibres de la *pell exposada* respecte de la *pell protegida*.

Taula 1. NIVELLS DE PORFIRINES

CAS	ORINA			
	URO	COPRO	PBG	ALA
1	1956	232	0	0,75
2	2640	392	-	-
3	5834	916	-	-
4	1890	462	-	-
5	3218	344	0	0,15
6	2921	95	-	-
7	2341	372	-	-
8	2118	518	0	0,30
9	6220	534	0	0,35
10	854	171	-	0,250
11	1597	201	0,17	0,30

Valors normals del Laboratori de Porfirines del
 Dep.Dermatologia de l'Hospital Clínic i Provincial de
 Barcelona:

- ORINA: Copro: 1-283µg/24h, URO: 0-40µg/24h,
 ALA: 0-0,5mg%, PBG: 0-0,2mg%.

Taula 2. NIVELLS DE PORFIRINES

	FEMTA	
CAS	PROTO	COPRO
1	65	37
2	24	132
3	194	207
4	72	62
5	127	37
6	58	29
7	39	46
8	165	90
9	95	56
10	69	5
11	94	29

Valors normals del Laboratori de Porfirines del
Dep.Dermatologia de l'Hospital Clínic i Provincial de
Barcelona:

- FEMTA: Proto: 0-113µg/g femta seca, Copro:0-50µg/g
femta seca.

Taula 3. RELACIO CLINICA DELS MALALTS ESTUDIATS

CAS	EDAT	SEXE	T.EVOLUCIO
1	58a.	V	12mesos
2	70a.	V	8mesos
3	33a.	V	36mesos
4	39a.	V	6mesos
5	48a.	V	24mesos
6	73a.	V	4mesos
7	56a.	V	6mesos
8	42a.	V	18mesos
9	44a.	V	30mesos
10	37a.	V	12mesos
11	76a.	V	8anys

Dades clíniques dels malalts inclosos en aquest estudi
Es tractava d'onze barons de mitjana d'edat de 52,36anys
± 15,25, i amb mitjana de clínica activa de 23,27 mesos
± 27,5

Taula 4. FACTORS PREDISPONENTS

CAS	ENOLISME	MEDICACIO
1	200g/dia	Tuberculostàtics
2	15g/dia	Diazepan
3	175-200g/dia	No
4	250-270g/dia	No
5	50g/dia	No
6	No	No
7	175-200g/dia	No
8	80-90g/dia	No
9	200g/dia	No
10	80g/dia	No
11	No	No

Sis malalts explicaven una ingesta enòlica de > 80gs.

RESULTATS

4. RESULTATS

4.1. ESTUDI HISTOPATOLOGIC (fig 2 i 3).

4.1.1. *PELL PROTEGIDA* (taula 5).

A *pell protegida* l'epidermis es mostrava en conjunt inalterada a excepció de 2 casos en els que s'observava una lleu hiperqueratosi. Les membranes basal dermo-epidèrmica i vascular es trobaven engruixides en 1 i 2 casos, respectivament. La tinció per PAS-D resultà clarament positiva a nivell de la membrana basal dermoepidèrmica en 2 casos, i en altres 4 malalts a nivell vascular.

La tinció amb Blau Alcà fou positiva a dermis alta en 5 malalts.

No s'observà elastosi en cap de les mostres, però sí una banda de col.lagen subepidèrmica lleu o present en 5 casos, i augment lleu de la densitat del col.lagen dèrmic en dos casos.

4.1.2. *PELL EXPOSADA* (taula 6).

A *pell exposada* s'apreciava hiperqueratosi i hipergranulosis d'incipient a intenses en 10 i 8 casos, respectivament, dels 11 malalts, i acantosi en 3 casos més. S'observava la membrana basal dermoepidèrmica engruixida en graus variables en 7 malalts, i la membrana basal vascular reforçada en 6 malalts. La tinció de PAS-D era clarament positiva a unió dermoepidèrmica en 4 casos i a vasos de la dermis alta en 6 casos més. A la tinció amb Blau Alcà mostrà positivitat a dermis alta en 8 casos.

Es detectà elastosi intensa en 4 malalts, i lleu o present en altres 3 malalts.

RELACIO DELS CANVIS ANATOMOPATOLOGICS AMB LA CLINICA (Taula 7).

S'intentà relacionar els canvis clínics amb els histopatològics, no podent-se observar una tendència d'afectació de la membrana basal dermo-epidèrmica, afectació de la paret dels vasos o dipòsit de mucopolisacàrids, ni en el grau de fibrosi, per raó d'edat, temps d'evolució o nivells d'URO (fig 4).

Segons la densitat, la disposició estructural i el nombre de fibròcits es classificà la fibrosi dèrmica de les mostres de *pell exposada* com a *fibrosi establerta* a 7 mostres i de *fibrosi inicial* a les 4 restants (taula 8).

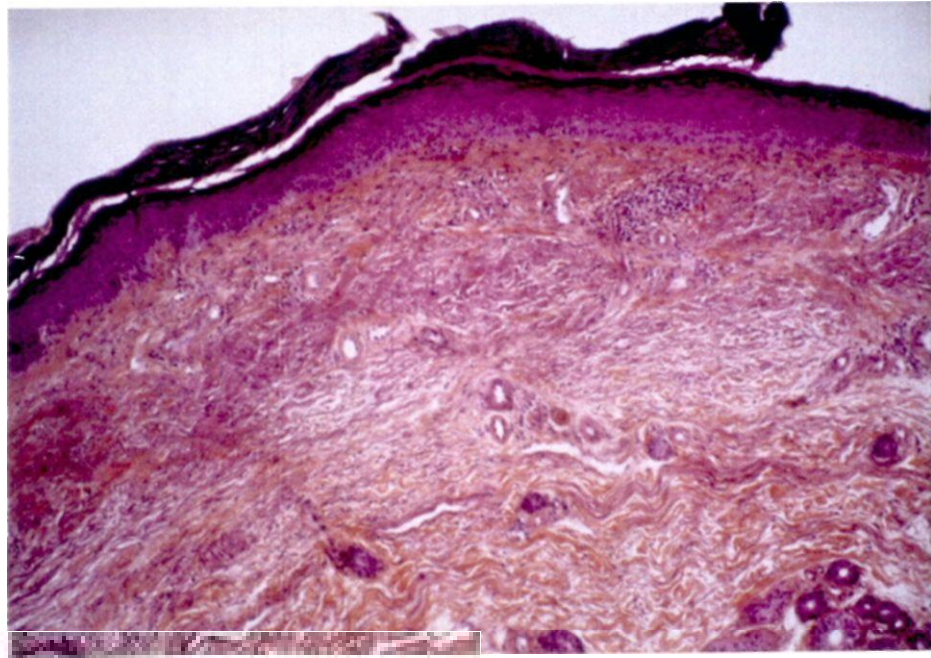
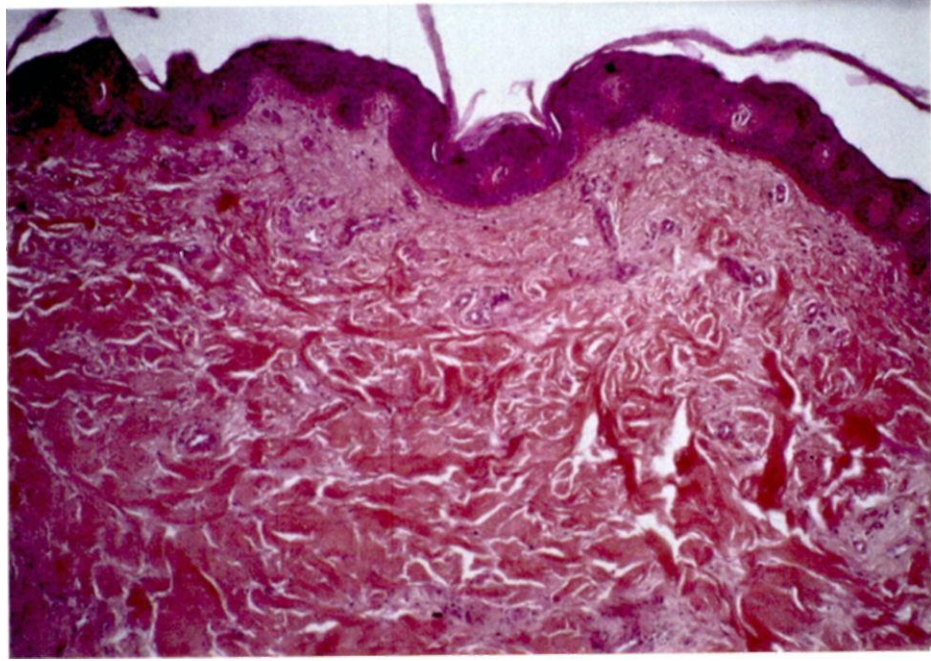


Fig 2. Histopatologia de *pell fotoprotegida* i *pell fotoexposada*. (Hematoxilina-eosina, x100).

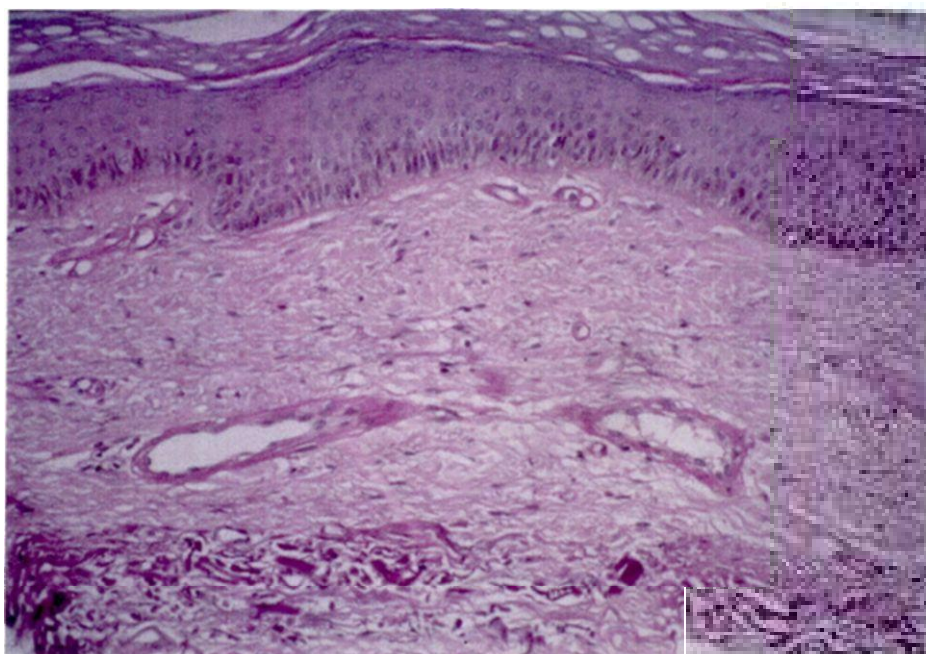
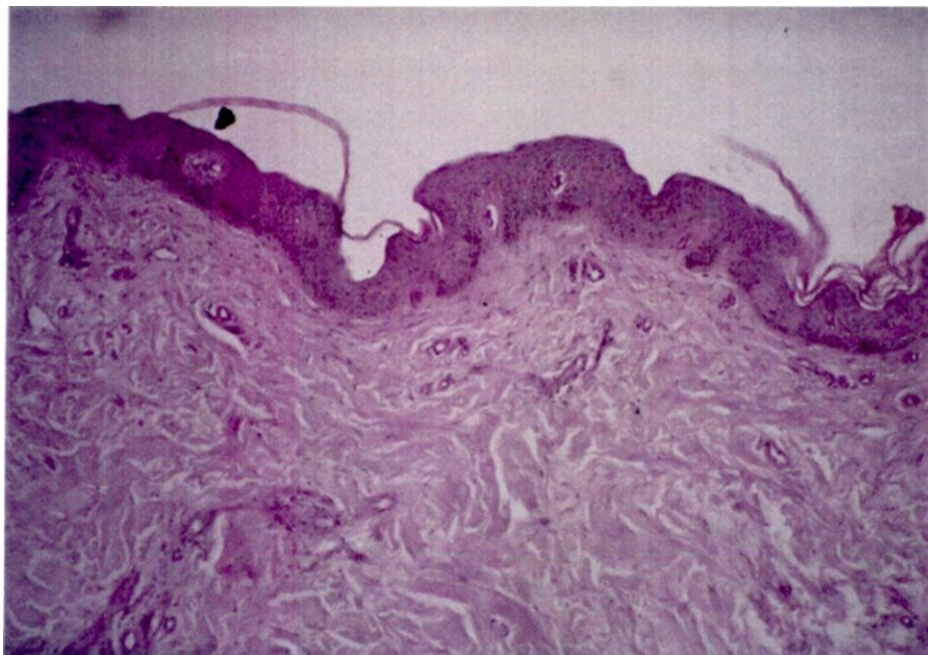
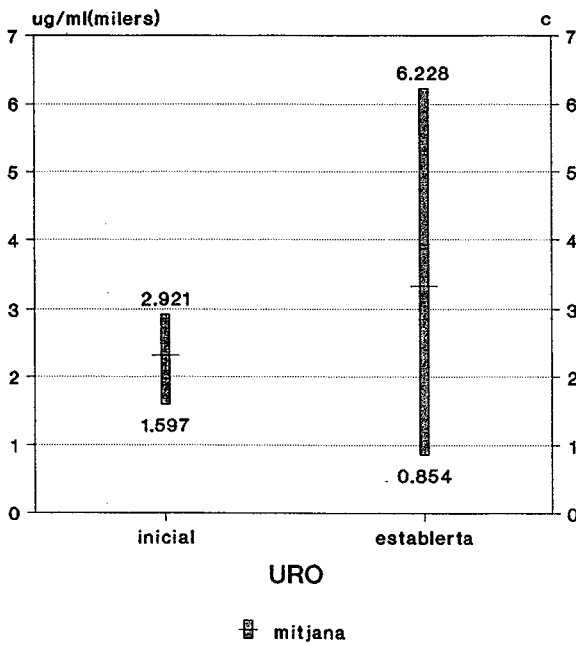
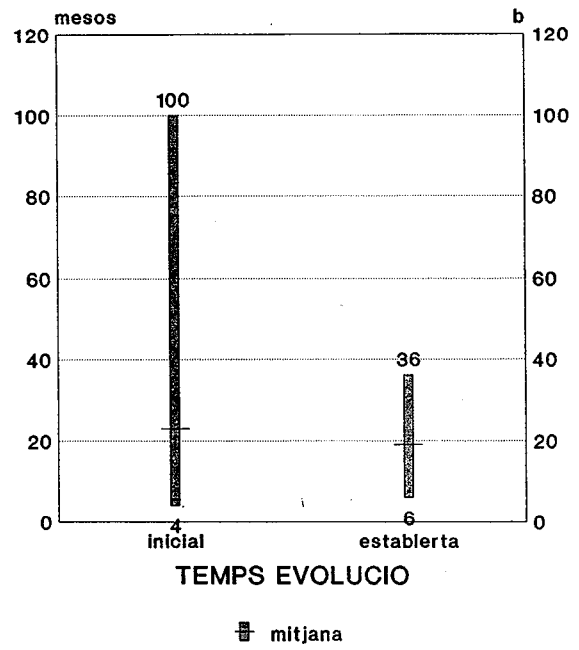
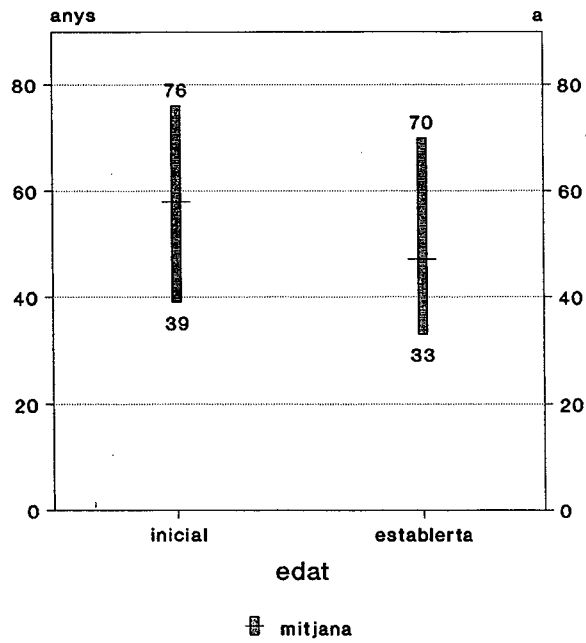


Fig 3. Intensa positivitat a la tinció per PAS-D dels vasos de la dermis superior de la *pell fotoexposada* (foto inferior, X200) respecte a la *pell fotoprotegida* (foto superior, X100)

Fig 4. FIBROSI/CLINICA. Representació de les mostres segons el grau de fibrosi determinat per histopatologia (inicial o establerta), tenint en compte l'edat(a), temps d'evolució(b) i els nivells d'uroporfirina(c)

FIBROSI/CLINICA



Taula 5. TROBALLEES HISTOLOGIQVES DE LA PELL PROTEGIDA

CAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
HIPERQUERATOSI	±	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
HIPERGRANULOSI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ACANTOSI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ENGRUIXAMENT MEMBRANA BASAL	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ENGRUIXAMENT VASCULAR	±	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PAS M.BASAL	±	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
VASOS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	++	+
BLAU ALCIA DERMIS	-	++	-	±	+	+	+	-	-	-	-
COL. LAGEN ELASTOSI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FIBROCITS	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
BANDA SUBEPIDERMICA	±	-	-	-	+	+	-	-	+	-	±
DENSITAT	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	±
FEIXOS	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

- negatiu

± lleu o incipient.

+ present.

++ intens o molt augmentats.

N normal.

A alterats.

Taula 6. TROBALLES HISTOLOGIQVES DE LA PELL EXPOSADA AL SOL.

CAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
HIPERQUERATOSI	+	+	++	+	+	+	++	+	-	++	++
HIPERGRANULOSI	++	-	++	+	-	+	+	++	-	+	±
ACANTOSI	-	-	-	-	-	-	-	±	-	++	+
ENGRUIXAMENT DE LA MEMBRANA BASAL	-	++	+	-	±	-	+	-	+	+	+
ENGRUIXAMENT VASCULAR	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	++
PAS M.BASAL	±	+	+	±	-	-	-	-	+	-	+
VASOS	++	±	+	++	-	+	-	-	+	-	++
BLAU ALCIA DERMIS	-	++	-	+	+	±	++	+	-	+	±
COL.LAGEN ELASTOSI	++	++	-	-	-	±	++	+	++	-	+
FIBROCITS	++	+	+	+	N	++	++	++	++	+	+
BANDA SUBEPIDERMICA	+	+	+	-	±	-	+	-	+	-	+
DENSITAT	++	++	-	+	-	+	+	++	+	-	
FEIXOS	A	A	N	N	A	A	A	A	A	A	A

- negatiu

± lleu o incipient.

+ present.

++ intens o molt augmentats.

N normal.

A alterats.

**Taula 7. RELACIO DELS CANVIS HISTOPATOLOGICS DE LA PELL EXPOSADA
AMB ELS PARAMETRES CLINICS**

CAS	EDAT	T.EVOLUC.	PELL EXPOSADA			PAS		B.ALCIA
			ORINA			MB	VAS	DERMIS
			URO ug/d	MB	VAS	MB	VAS	
1	58a	12m	1956	-	+	±	++	-
2	70a	8m	2640	++	+	+	±	++
3	33a	36m	5834	+	-	+	+	-
4	39a	6m	1890	-	-	±	++	+
5	48a	24m	3218	±	-	-	-	+
6	73a	4m	2921	-	+	-	+	±
7	56a	6m	2341	+	+	-	-	++
8	42a	18m	2118	-	-	-	-	+
9	44a	30m	6228	+	+	+	+	-
10	37a	12m	854	+	-	-	-	+
11	76a	15a	1597	+	++	+	++	±

Taula 8. CLASSIFICACIO DE LA FIBROSI

CAS	COL.LAGEN	Nº FIBROCITS	FIBROSI
1	Normal Banda subepi- dèrmica Feixos alterats	Molt augmentat	Inicial
2	Molt Dens Banda subepi- dèrmica Feixos alterats	Augmentat	Establert
3	Molt dens Banda subepi- dèrmica	Augmentat	Establert
4	Normal	Augmentat	Inicial
5	Dens Feixos alterats	Normal	Establert
6	Normal Feixos alterats	Molt augmentat	Inicial
7	Dens Banda subepi- dèrmica Feixos alterats	Molt augmentat	Establert
8	Dens Feixos alterats	Molt augmentat	Establert
9	Molt dens Banda subepi- dèrmica Feixos alterats	Molt augmentat	Establert
10	Dens Feixos alterats	Augmentat	Establert
11	Normal Banda subepi- dèrmica Feixos alterats	Augmentat	Inicial

4.1.4. MASTOCITS.

4.1.4.1. NOMBRE DE MASTOCITS (fig 5).

Els valors absoluts de mastòcits per a cada individu a ambdues zones, segons nivells progressius de 0,25mm de profunditat i 1,0mm d'amplada (àrea total: 1mm²) s'exposen a la taula 9.

A *pell exposada* hi havia un total de 98 a 216 cèl.lules/mm², amb una mitjana de 145 ± 38,1 cèl.lules/mm²; mentre que a *pell protegida* es comptaren de 13 a 124 cèl.lules/mm², amb una mitjana de 66 ± 33,7 cèl.lules/mm², per tant, la densitat de mastòcits per mm² a *pell exposada* era superior a la de *pell protegida* amb una diferència estadísticament significativa.

4.1.4.2. DISTRIBUCIO SEGONS NIVELLS DERMICS.

La distribució dels valors obtinguts per nivells de profunditat mostra una densitat major de mastòcits a derma papil.lar alta (fins a 0,25mm de profunditat) a les dues zones estudiades, amb valors progressivament menors a nivells inferiors (fins a 1 mm de profunditat) (fig 6).

La comparació d'ambdues zones confirma que a la *pell protegida* els valors són clarament inferiors a tots els nivells, essent la diferència de cada nivell estadísticament significativa (taula 10)

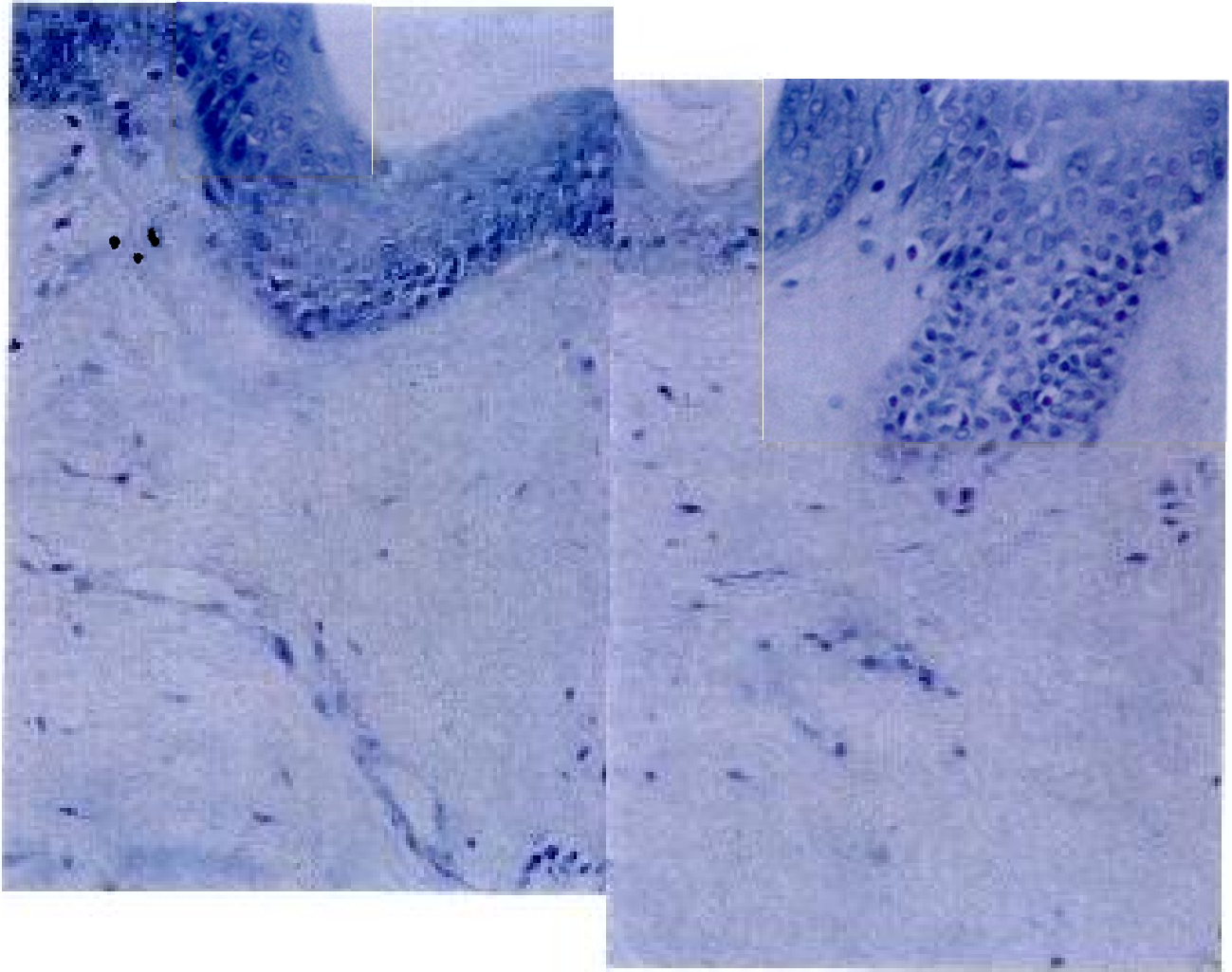
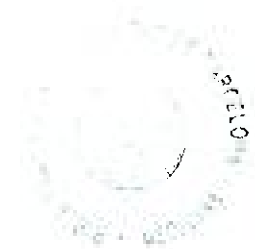


Fig 5. Nombre de mastòcits augmentat a la *pell fotoexposada* (b) en comparació a la *pell fotoprotegida*(a). (Blau de Toluidina, x200).



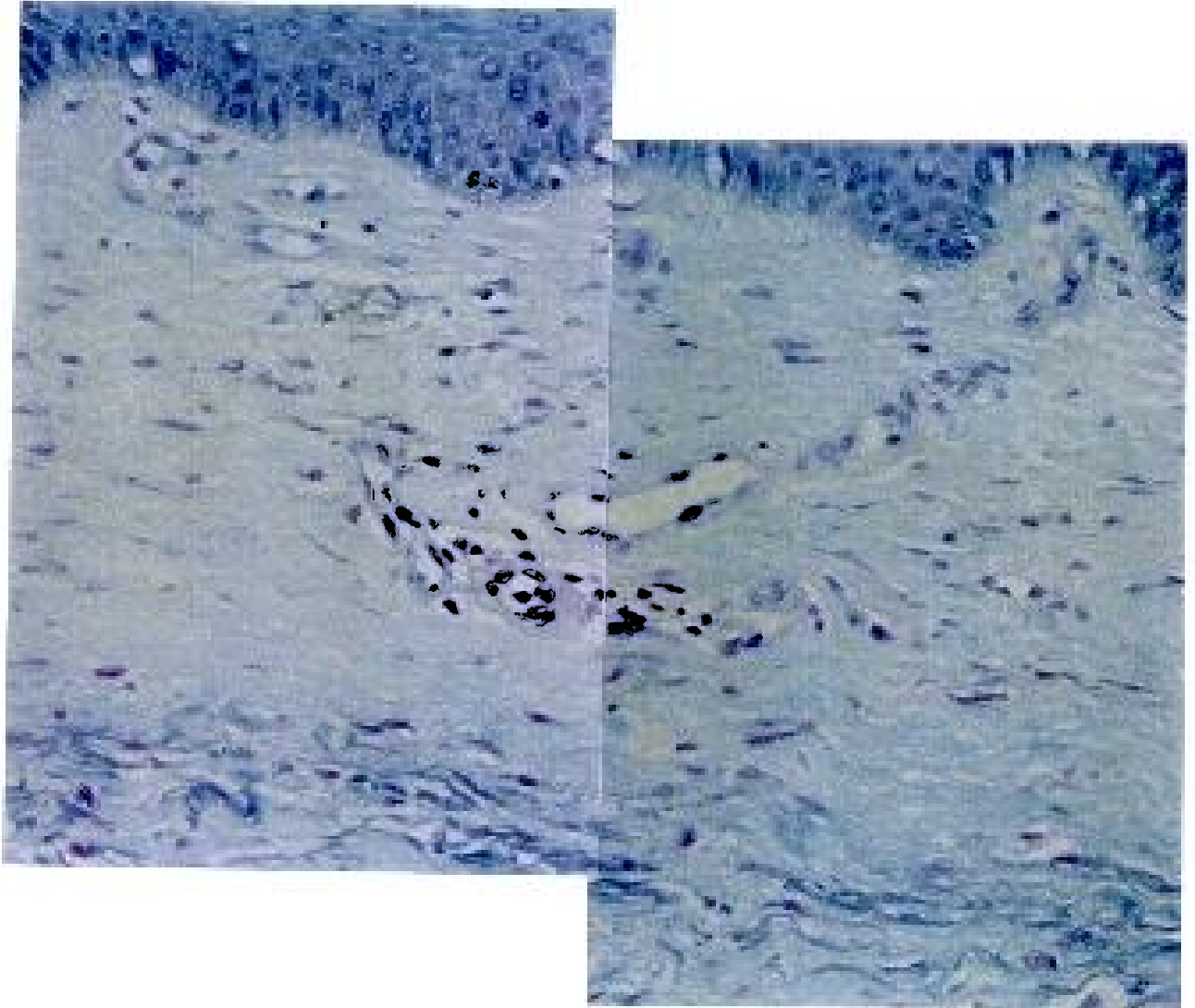


Fig 5. Nombre de mastòcits augmentat a la *pell fotoexposada* (b) en comparació a la *pell fotoprotegida*(a). (Blau de Toluidina, x200).

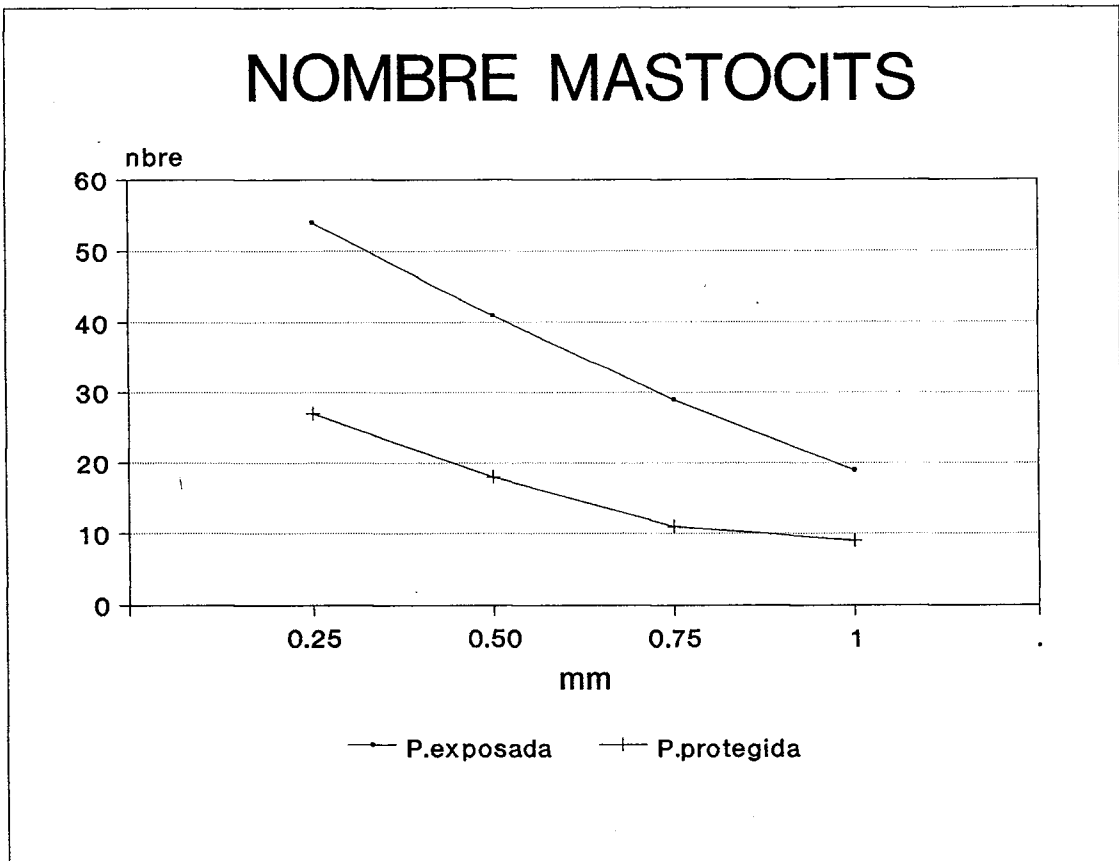


Fig 6. Representació gràfica del nombre de mastòcits obtingut segons el nivell dèrmic a *pell exposada* i a *pell protegida*.

Així, a la derma papil.lar alta de la *pell exposada* les densitats variaven de 37 a 72 mastòcits amb una mitjana $54 \pm 11,8$ cèl.lules/mm². A 1mm de profunditat el nombre de mastòcits varia de 7 a 43 amb una mitjana $19 \pm 10,8$ cèl.lules/mm².

A derma papil.lar alta de *pell protegida* la densitat de mastòcits és de 7 a 46 cèl.lules amb una mitjana $27 \pm 12,3$ cèl.lules/mm²; mentre que al nivell inferior aquesta densitat només és de 2 a 18 mastòcits amb una mitjana $9 \pm 4,8$ cèl.lules/mm².

4.1.4.3. RELACIO ENTRE EL NOMBRE DE MASTOCITS I LA CLINICA.

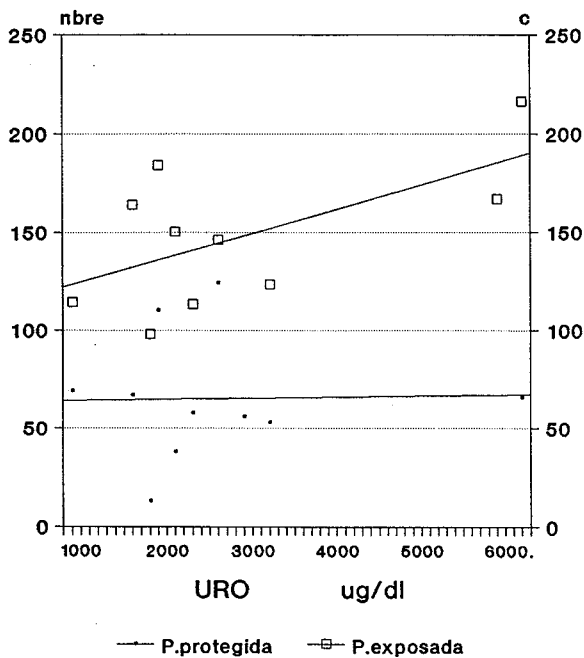
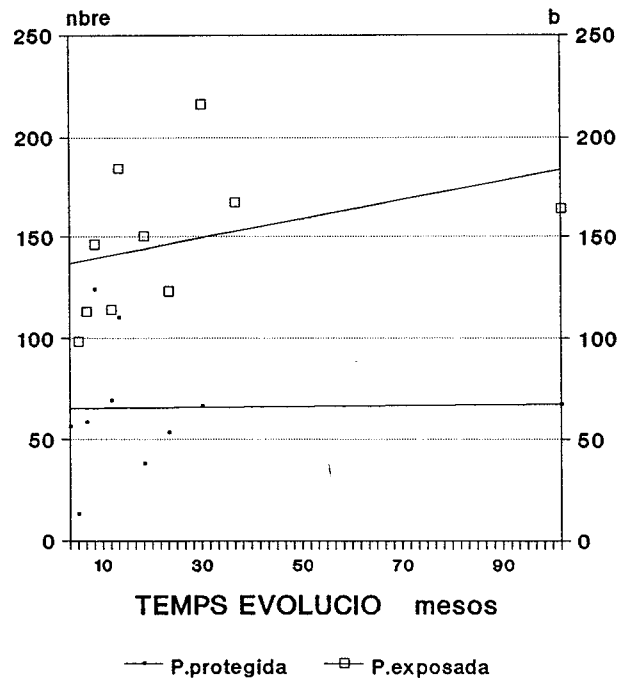
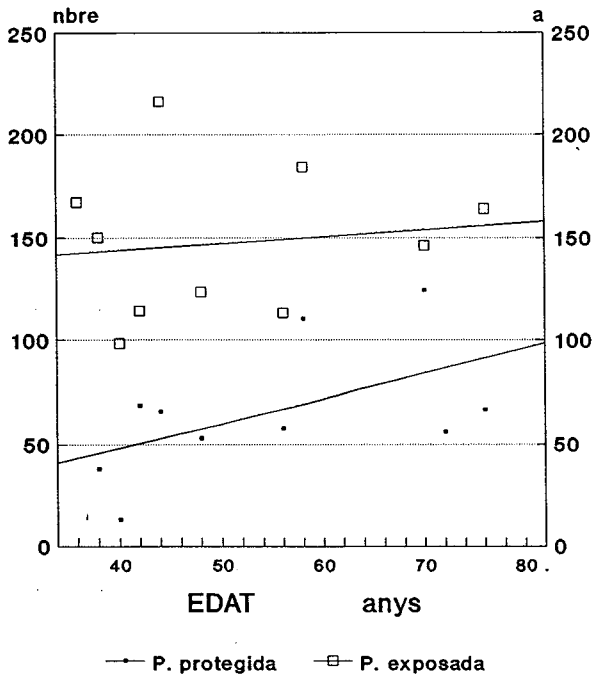
No s'observà una relació de la densitat de mastòcits de *pell protegida* amb el temps d'evolució (fig 7b) o els nivells d'URO (fig 7c), encara que si havia certa tendència a augmentar amb l'edat (fig 7a).

A *pell exposada* s'observava un augment lleu de la densitat de mastòcits amb l'envelliment (fig 7a), i un gran augment amb els nivells creixents d'URO (fig 7c) i amb el temps d'evolució (fig 7b). Quant major eren aquests dos paràmetres, major era la densitat de mastòcits totals. La densitat de mastòcits tendia a augmentar lleument amb nivells creixents d'URO a derma superficial (fins a 0,50mm), i en major intensitat a derma profunda (fins a 1mm de profunditat) (fig 8).

La distribució de la densitat de mastòcits segons l'afectació vascular mostrava que les peces amb parets vasculars engruixides o dipòsits PAS +, tenien un nombre major de mastòcits totals (fig 9).

Fig 7. MASTOCITS/CLINICA. Representació gràfica del nombre de mastòcits d'ambdues àrees segons l'edat (a), el temps d'evolució (b) i els nivells d'uroporfirina (c).

MASTOCITS/CLINICA



MASTOCITS/URO

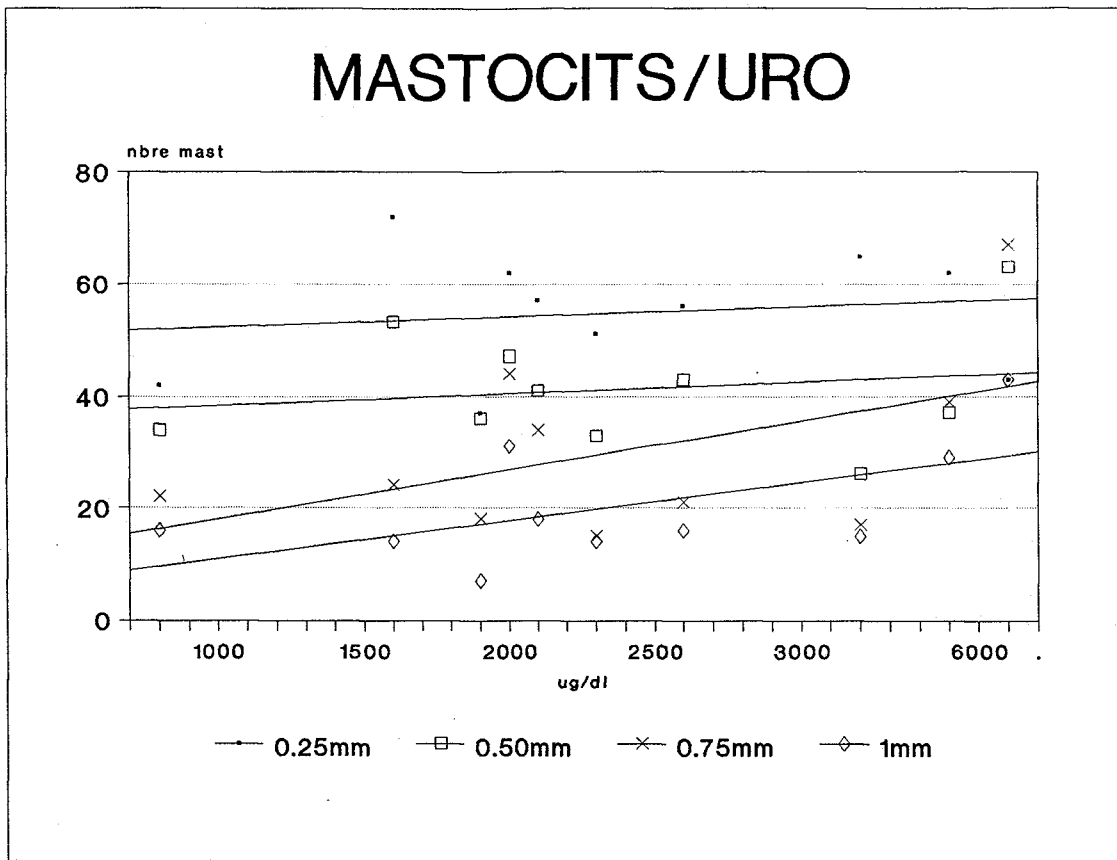


Fig 8. Representació gràfica del nombre de mastòcits segons el nivell dèrmic i els valors d'uroporfirina. Els increments d'uroporfirina van acompanyats d'un augment en el nombre de mastòcits a tots els nivells dèrmics.

MASTOCITS / VASOS

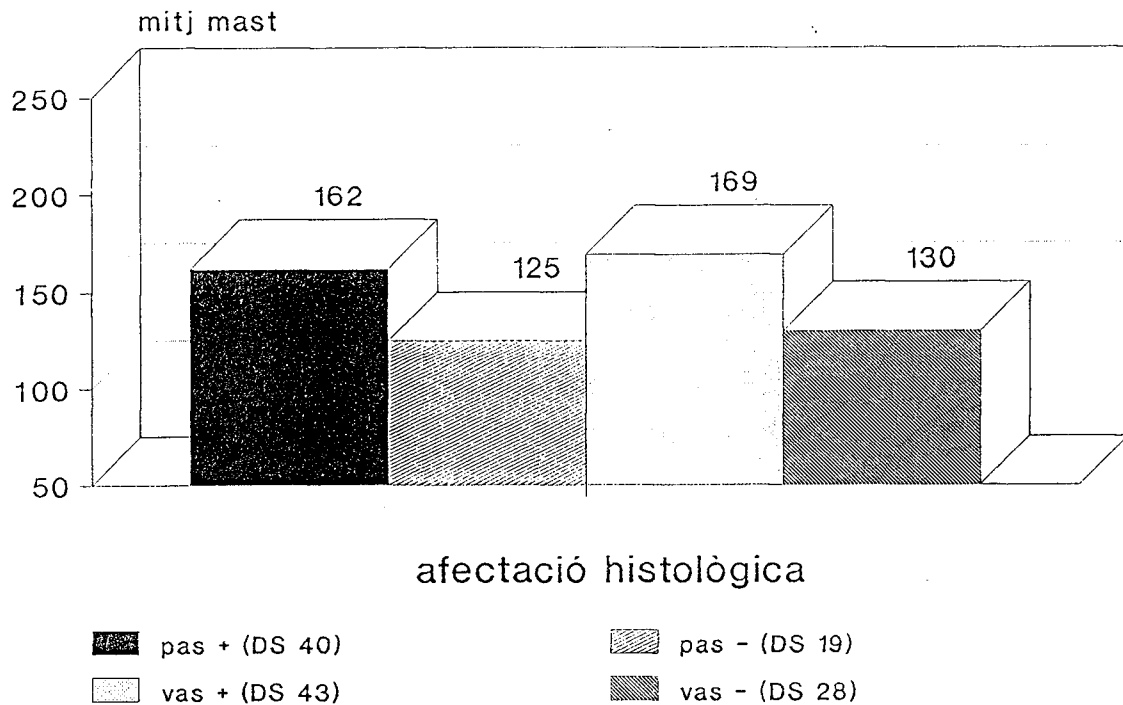


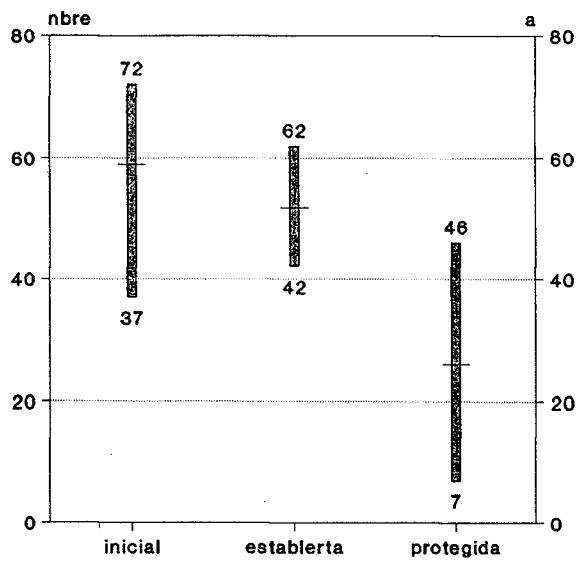
Fig 9. Mitjana dels mastòcits segons l'afectació vascular observada a l'estudi histopatològic (DS: Desviació estàndar), on s'observa que les mostres amb parets vasculars engruixides o dipòsits PAS + tenien unes mitjanes superiors a les mostres sense afectació vascular.

La distribució de la densitat de mastòcits segons els nivells de profunditat dèrmics i el grau de fibrosi a *pell exposada* (fig 10), (emprant la *pell protegida* com a control), mostrava que:

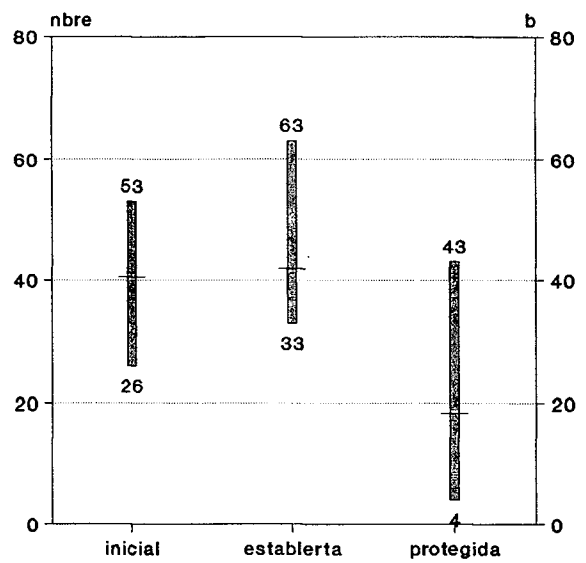
- 1) la densitat era major a les mostres amb fibrosi;
- 2) la densitat de mastòcits era superior en aquells casos en que la fibrosi es troba a les fases inicials i als nivells dèrmics superiors.

Fig 10. Distribució del nombre de mastòcits segons el grau de fibrosi de les mostres de la *pell exposada*, comparant-les a les de *pell protegida*, en els diferents nivells dèrmics.

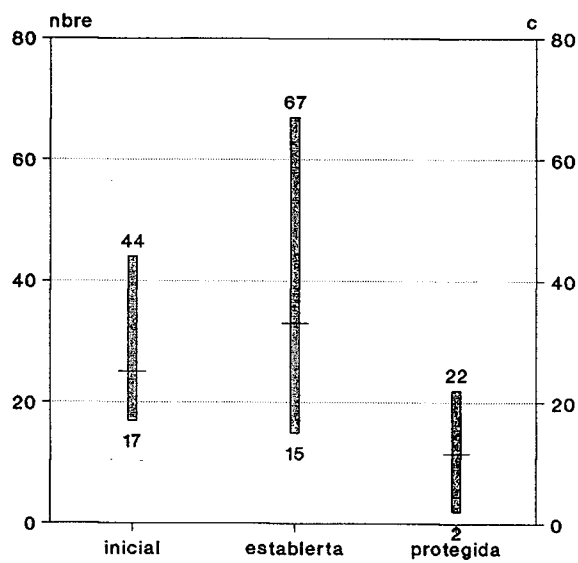
MASTOCITS/FIBROSI



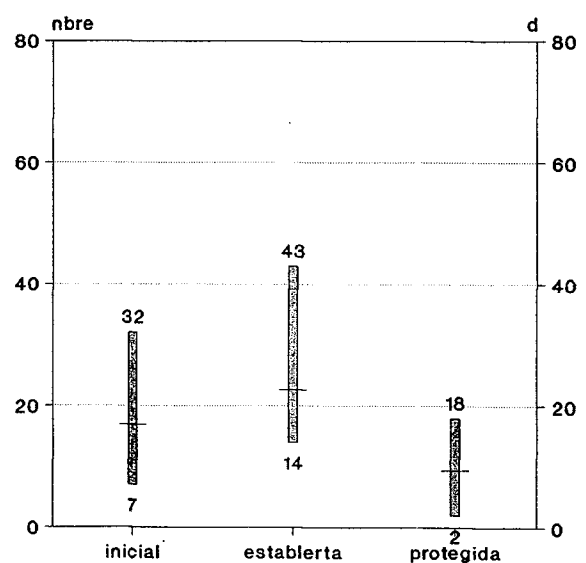
Mitj 0.25mm



Mitj 0.50mm



Mitj 0.75mm



Mitj 1mm

Taula 9. RELACIO DEL NOMBRE DE MASTOCITS A AMBDUES AREES

mm	PELL EXPOSADA					PELL PROTEGIDA				
	0,25	0,5	0,75	1	TOTAL	0,25	0,5	0,75	1	TOTAL
CAS										
1	62	47	44	31	184	43	28	21	18	110
2	56	43	21	16	146	46	43	22	13	124
3	62	37	39	29	167					ND
4	37	36	18	7	98	7	4	2	2	13
5	65	26	17	15	123	28	9	8	7	53
6					ND	18	17	13	8	56
7	51	33	15	14	113	28	14	8	8	58
8	57	41	34	18	150	17	11	5	5	38
9	43	63	67	43	216	22	21	14	9	66
10	42	34	22	16	114	32	14	12	11	69
11	72	53	24	14	164	20	22	11	14	67
Mitjana ± DS					145 ± 38	66 ± 33				

ND: No determinat.

p<0,05

Taula 10. DENSITATS DE MASTOCITS SEGONS NIVELLS DE PROFUNDITAT

mm	PELL EXPOSADA		PELL PROTEGIDA	
	10 casos	MITJ±DS	10 casos	MITJ±DS
(0-0,25):	37 - 72	54±11,8	7 - 46	27±12,3
(0,25-0,5):	26 - 63	41±11,3	4 - 43	18±11,7
(0,5-0,75):	15 - 67	29±16,9	2 - 22	11±6,7
(0,75-1):	7 - 43	19±10,8	2 - 18	9±4,8
TOTAL:	98 - 216	145±38,1	13 - 124	66±33,7

4.2. ESTUDI PER ULTRAESTRUCTURA.

4.2.1. DIAMETRE DE LES FIBRES DE COL.LAGEN (fig 11).

A la *pell protegida* els valors dels diàmetres mitjos variava de 60,00 a 93,10 nm amb una mitjana de $73,32 \pm 10,05$ nm, mentre que a la *pell exposada* els diàmetres mitjos de les fibres de col.lagen era menor i oscil.lava entre 44,10 a 78,43 nm, amb una mitjana $58,32 \pm 11,07$ nm (taula 11).

Amb l'aplicació de l'anàlisi estadística (*test de Wilcoxon per a dades desaparellades*) es comprovà que la diferència entre els diàmetres mitjos de les fibres de col.lagen de la *pell exposada* respecte als de la *pell protegida* era estadísticament significativa

4.2.1.1. PELL PROTEGIDA.

Els valors dels diàmetres mitjos de la *pell protegida* tendien a augmentar discretament amb l'edat (fig 12a), i amb el temps d'evolució (fig 12b). No es modificaven amb els canvis en els nivells d'URO (fig 12c).

4.2.1.2. PELL EXPOSADA.

A la *pell exposada* els diàmetres mitjos mostraven una tendència a disminuir amb l'edat (fig 12a), a augmentar amb el temps d'evolució (fig 12b), i amb nivells creixents d'URO (fig 12c).

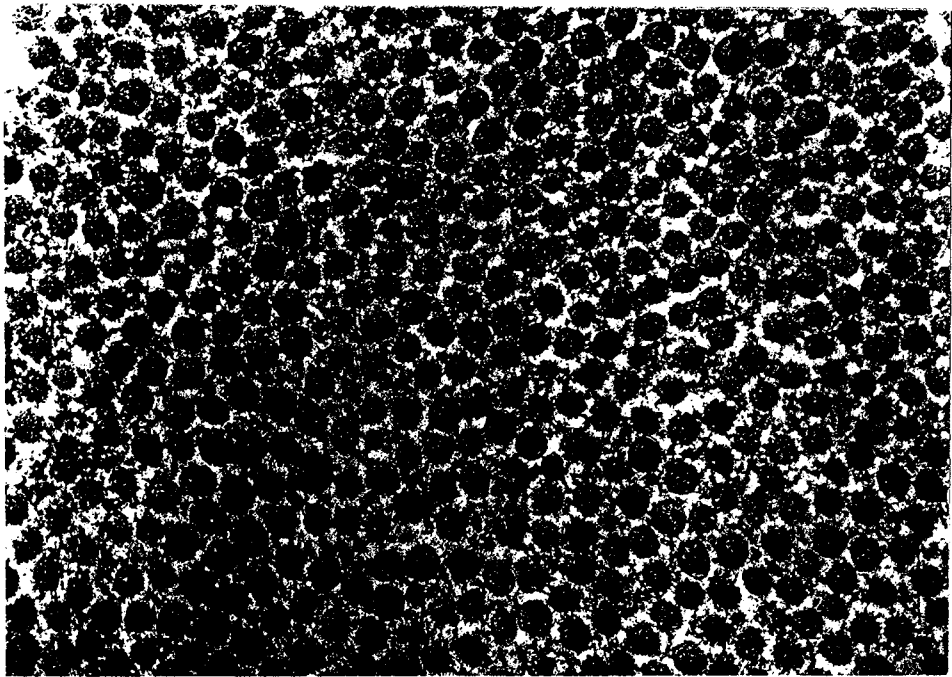
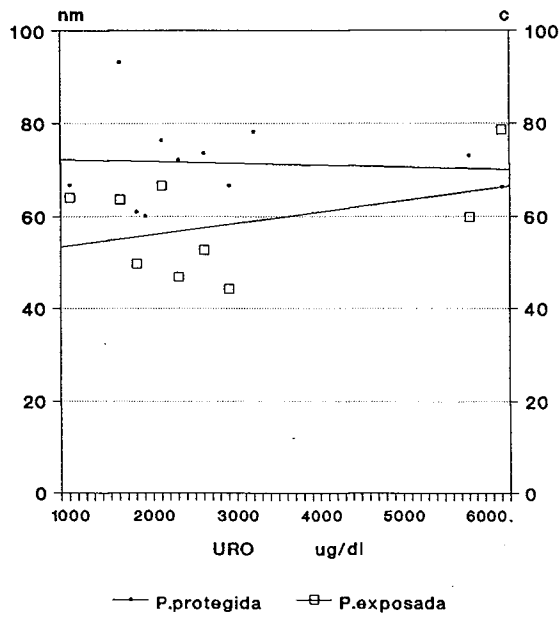
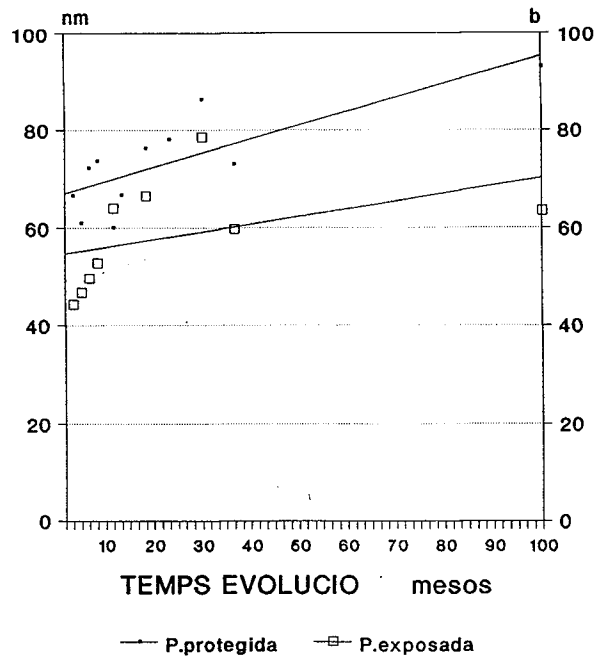
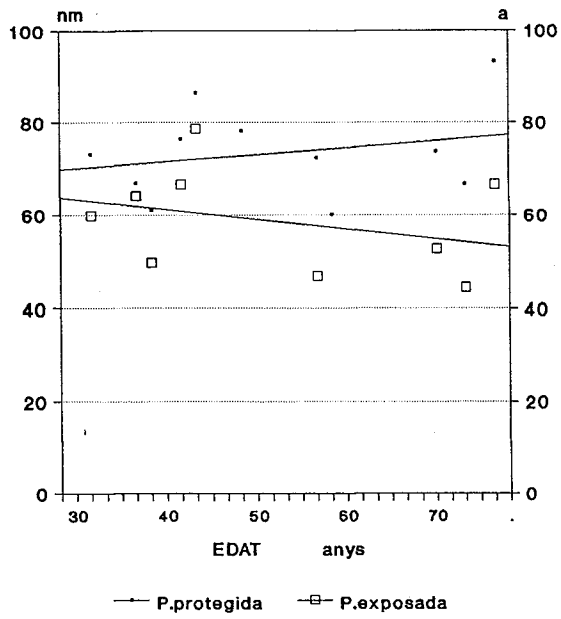


Fig 11. Microscopia electrònica de fibres de col.lagen de pell fotoexposada i pell fotoprotegida (x20.000).

Fig 12. DIAMETRE/ CLINICA. Valor dels diàmetres d'ambdues àrees referits segons l'edat (a), el temps d'evolució (b) i els nivells d'uroporfirina (c).

DIAMETRE/CLINICA



4.2.1.3. RELACIO ENTRE ELS DIAMETRES I ELS MASTOCITS.

A la *pell exposada* els diàmetres de les fibres de col.lagen tendien a ser més gruixuts a mesura que augmentava el nombre de mastòcits totals, cosa que no s'observava a la *pell protegida* (fig 13).

4.2.2. REDUCCIO DELS DIAMETRES A PELL EXPOSADA.

A la taula 12 es relacionen els percentatges de la reducció dels diàmetres de les fibres de col.lagen de la *pell exposada* respecte als de la *pell protegida*.

La disminució dels diàmetres mitjos a la *pell exposada* era del 33,77% fins al 8,63%, amb una mitjana de $18,73 \pm 10,6\%$.

La reducció dels diàmetres a la *pell exposada* era més intensa amb l'envelliment, sobretot a partir dels 50 anys (fig 14a), i disminuïa amb nivells d'URO creixents (fig 14c).

Encara que els diàmetres tendien a augmentar en el curs de la malaltia a ambdues àrees, les fibres de col.lagen de la *pell exposada* no creixien tant com les de la *pell protegida*, pel que la diferència entre els diàmetres de les fibres d'ambdues àrees era major (fig 14c).

DIAMETRE/MASTOCITS

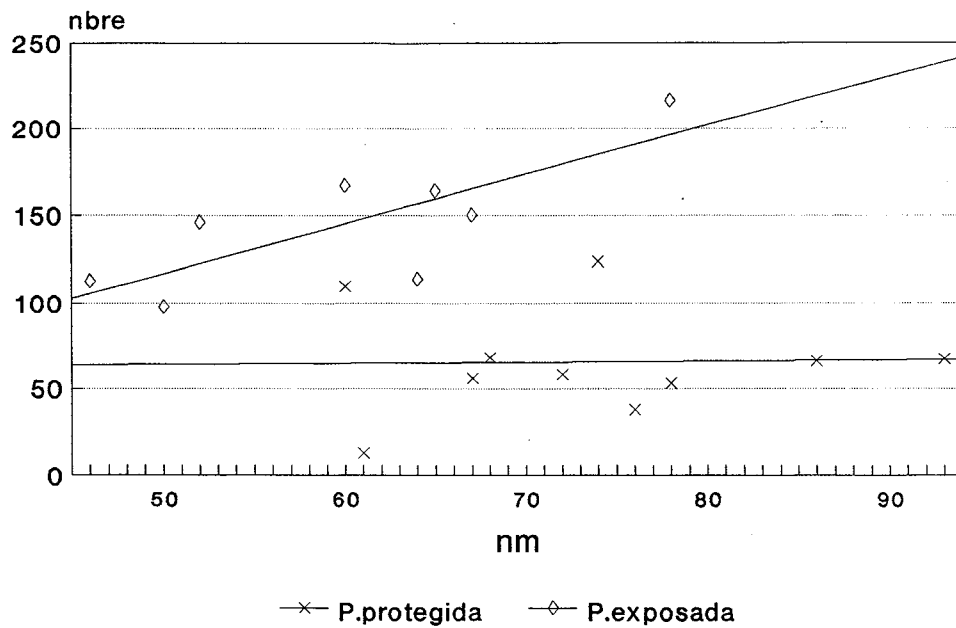
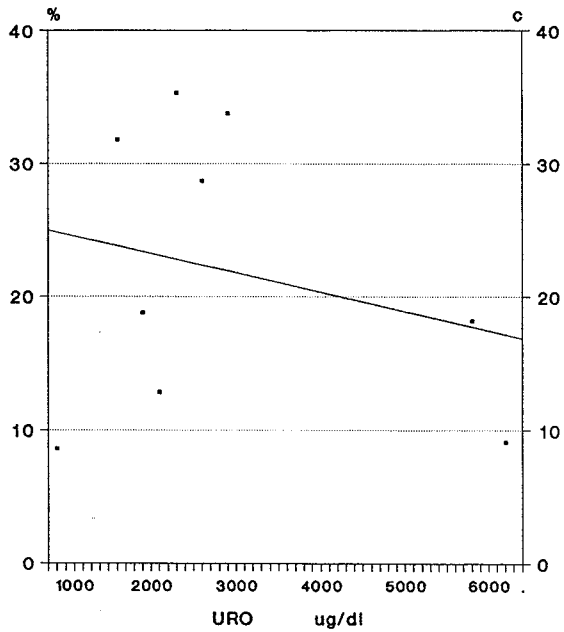
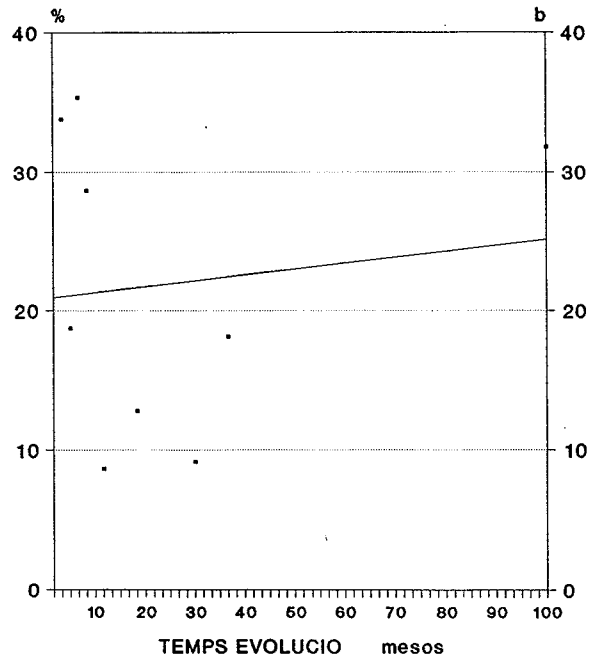
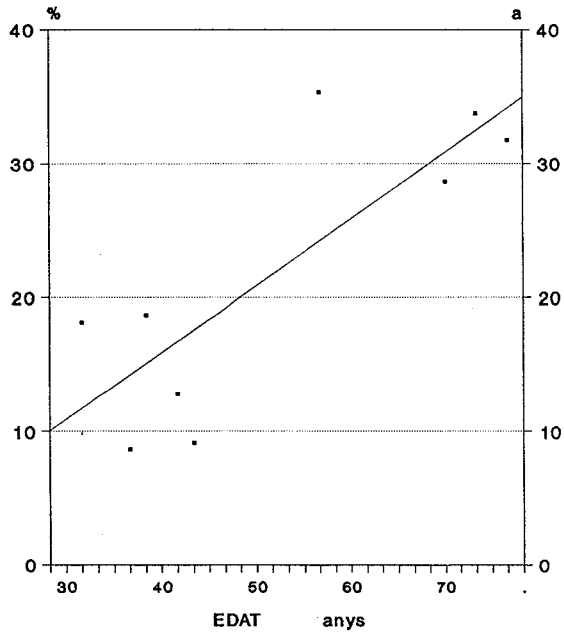


Fig 13. Relació entre l'augment del diàmetre de les fibres de col.lagen de la *pell exposada* i l'augment del nombre de mastòcits a la mateixa àrea.

Fig 14. REDUCCIO DIAMETRE/CLINICA. Representació gràfica de la variació del percentatge de reducció dels diàmetres de *pell exposada* respecte a la *pell protegida*, depenent de l'edat (a), el temps d'evolució (b) i dels nivells d'uroporfirina.

REDUCCIO DIAMETRE/CLINICA



4.2.3. NOMBRE DE FIBRES DE COL.LAGEN PER AREA.

El nombre de fibres per àrea donada va ser major a la *pell exposada* que a la *pell protegida* (fig 15). A la *pell exposada* es comptaren de 99 a 188 fibres per àrea amb una mitjana de $148 \pm 32,7$, i a la *pell protegida* de 89 a 155 fibres amb una mitjana de $122 \pm 23,1$, sense diferència estadísticament significativa (taula 13).

4.2.3.1. PELL PROTEGIDA.

Malgrat no hi havia diferències estadístiques, el nombre de fibres de la *pell protegida* tendia a augmentar amb l'edat (fig 16a) i amb el temps d'evolució (fig 16b), i a disminuir amb nivells creixents d'URO (fig 16c).

4.2.3.2. PELL EXPOSADA.

A la *pell exposada* el nombre de fibres tendia a disminuir amb el temps d'evolució (fig 16b), i a practicamente no modificar-se amb l'edat (fig 16a) o amb nivells d'URO (fig 16c).

4.2.3.3. RELACIO ENTRE EL NOMBRE DE FIBRES I LA DENSITAT DELS MASTOCITS.

El nombre de fibres a la *pell exposada* disminuïa progressivament amb l'augment de la densitat dels mastòcits, mentre que a la *pell protegida* succeïa a l'inrevés (fig 17).

FIBRES PER AREA

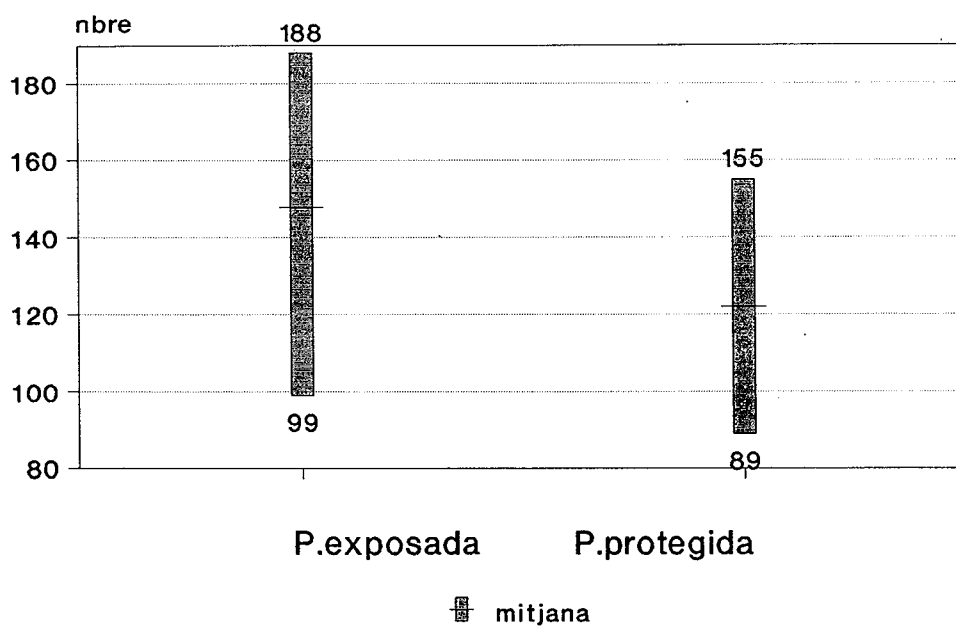
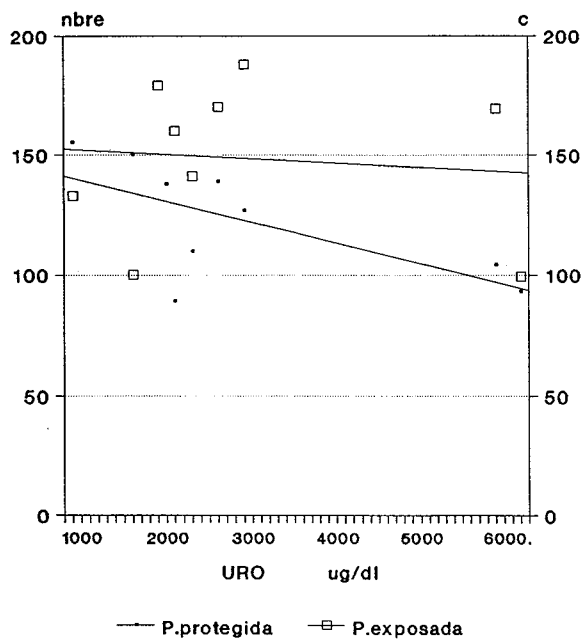
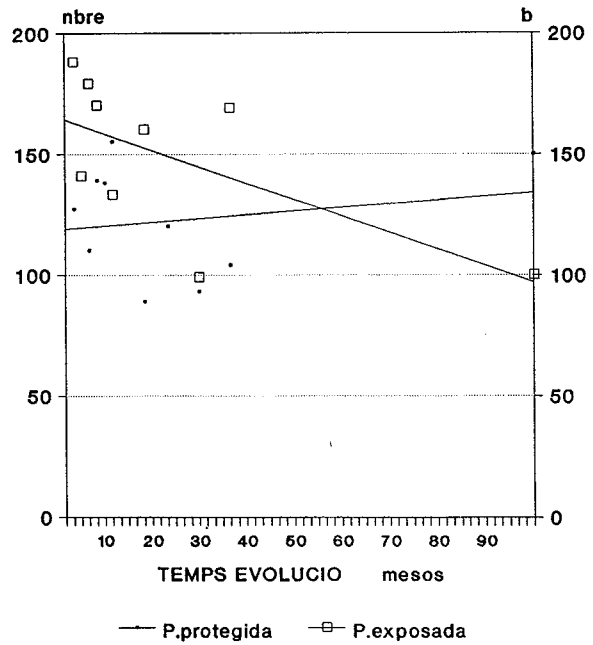
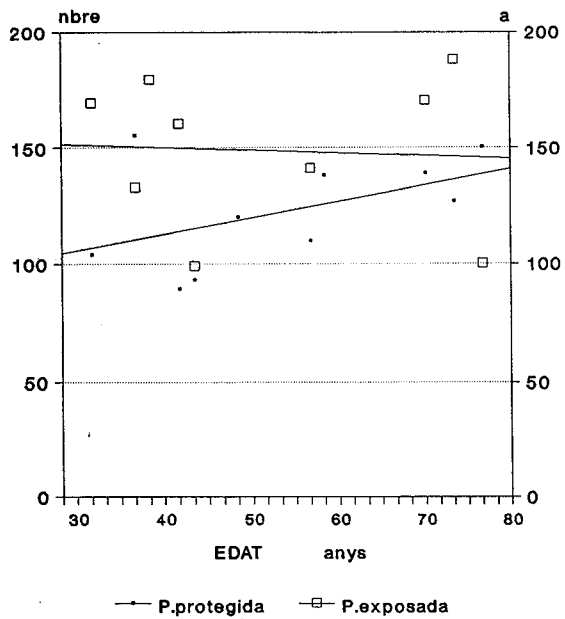


Fig 15. Distribució del nombre de fibres per àrea a ambdues àrees.

Fig 16. NOMBRE DE FIBRES/CLINICA. Variació del nombre de fibres per àrea a ambdues zones estudiades depenent de l'edat (a), el temps d'evolució (b) i els nivells d'uroporfirina (c).

NOMBRE FIBRES/CLINICA



NBRE FIBRES/MASTOCITS

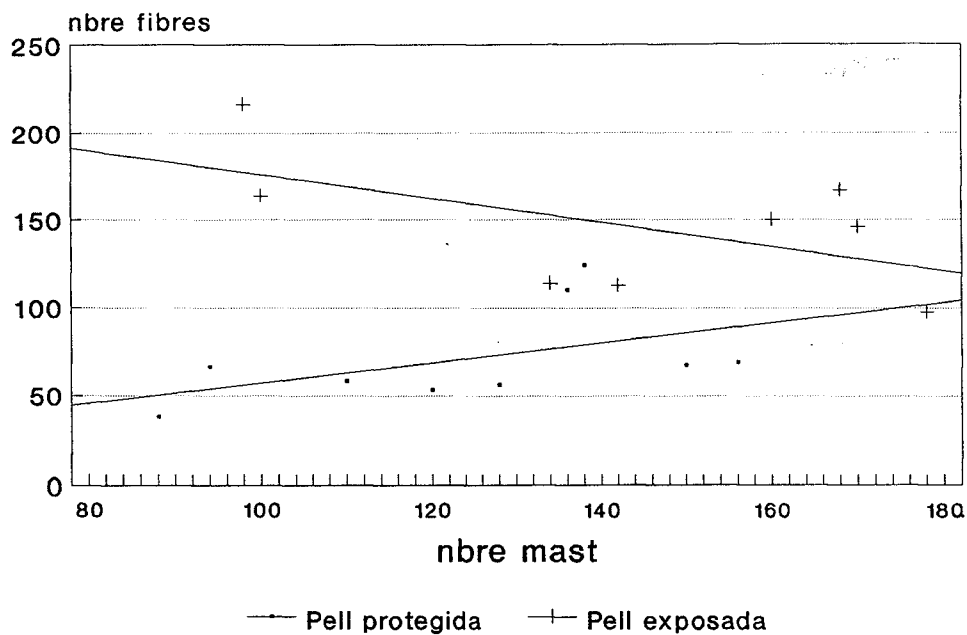


Fig 17. Relació entre el nombre de fibres per àrea i el nombre de mastòcits.

Taula 11. VALORS DELS DIAMETRES MITJOS A AMB DUES LOCALITZACIONS

CAS	PELL EXPOSADA	PELL PROTEGIDA
	DIAMETRE MIG (nm)	
1	ND	60,00 bimodal
2	52,50	73,58
3	59,72bimodal	72,96
4	49,53	60,95
5	ND	78,01
6	44,10	66,59
7	46,67	72,15
8	66,48	76,23
9	78,43	86,30
10	63,94	66,70bimodal
11	63,51	93,10

ND: no determinat.

P < 0,05

**Taula 12. PERCENTATGES DE REDUCCIO DEL DIAMETRE DE PELL EX-
POSADA RESPECTE A PELL PROTEGIDA**

CAS	REDUCCIO DIAMETRE %
1	ND
2	28,64
3	18,14
4	18,73
5	ND
6	33,77
7	35,31
8	12,79
9	9,11
10	8,63
11	31,78

ND: no determinat

Taula 13. NOMBRE DE FIBRES PER AREA A AMB DUES LOCALITZACIONS

	AREA EXPOSADA	AREA PROTEGIDA
CAS		
1	ND	138
2	170	139
3	169	104
4	179	ND
5	ND	120
6	188	127
7	141	110
8	160	89
9	99	93
10	133	155
11	100	150

ND: no determinat

DISCUSSIO

5. DISCUSSIO

5.1. CLINICA

Malgrat que el petit nombre de malalts no permet treure conclusions sobre associacions amb altres malalties, i que l'objectiu de l'estudi no era de caràcter clínic, la revisió dels antecedents personals patològics dels malalts confirmava les dades etiopatogèniques de la *Porfiria cutanea tarda* observades per altres autors.

Dels 11 malalts només un d'ells tenia a més una Diabetis mellitus (9%), que representa practicament el doble de la incidència de Diabetis mellitus tipus II estimada del nostre país, però no tan elevada com la que troben altres autors a diferents treballs amb percentatges que van del 15 al 27% (Burnham i Fosnaugh, 1961; Grossman *i cols*, 1979; Malina i Chumlsky, 1978; Topi i D'Alessandro Gandolfo, 1978; Simon *i cols*, 1977), de Diabetis mellitus en malalts amb *Porfiria cutanea tarda*.

Aquests autors suggereixen que la Diabetis mellitus pot ser un antecedent important en l'etiopatogènia de la *Porfiria cutanea tarda*, o bé per la implicació, no comprovada, dels antidiabètics orals, sobretot els de la família de la sulfonilurea, com inductors de la *Porfiria cutanea tarda*; o bé per una alteració del parènquima hepàtic o en el metabolisme dels carbohidrats (Malina i Chumlsky, 1978).

Dos dels 11 malalts havien patit una tuberculosi a la infància, i altres 2 presentaven una tuberculosi pulmonar activa. En el nostre país la incidència de la tuberculosi a 1984 s'estimava en 60 per 100.000 habi-

tants, essent la prevalència d'un 2,3% (Mallolas i Soriano, 1988), dades clarament inferiors a les trobades en el nostre estudi.

Aquesta major incidència ha estat igualment observada per altres autors (Malina i Chumlsky, 1978), on recullen un 15% de casos de tuberculosi en 140 malalts amb *Porfiria cutanea tarda* escollits a l'atzar. La causa d'aquesta major incidència, però, encara no queda establerta, encara que no es pot descartar el paper inductor de porfíria dels tuberculostàtics utilitzats durant períodes de varis mesos.

La clínica que manifestaven era, amb una gradació diferent d'un individu a l'altre, la de la síndrome subaguda de les porfíries.

S'observava la presència de vesiculació, ampolles de petita mida, erosions, costres, fragilitat cutània, hipertricosi i quists de milium.

En 6 dels 11 malalts s'observaven cicatrius atròfiques i hipohiperpigmentació a zones exposades al sol, sobretot a zona facial. Cap dels 11 malalts presentava lesions esclerodermiformes evidents. Això pot ser degut a que el temps d'evolució clínica de la malaltia era relativament curt, o el diagnòstic i els controls efectuats havien determinat un millor comportament de la malaltia (Herrero, 1979).

5.2. ESTUDI HISTOPATOLOGIC

A) Es sabut que a la *Porfiria cutanea tarda*, a part de les manifestacions agudes del tipus de la síndrome bullosa i la fragilitat cutània, es produeixen a les fases precoces manifestacions degeneratives semblants a les que s'observen en el fotoenvelliment, i que un nombre important de malalts desenvolupen lesions esclerodermiformes a les fases tardanes.

Aquesta clínica aguda i crònica està ocasionada pel paper fotosensibilitzant de les porfirines dipositades a la pell. Per aquest motiu s'ha intentat fer una comparació entre la histopatologia i la ultraestructura de mostres cutànies de malalts amb *Porfiria cutanea tarda*, i fer una relació de les semblances o diferències morfològiques que es desenvolupen a la pell exposada a la radiació o a resguard de la mateixa. S'ha de destacar que en el moment de l'obtenció de les mostres cutànies no es pretenguè biopsiar necessàriament lesió.

Les alteracions histològiques que s'han detectat tant a la *pell exposada* com a la *pell protegida* són les següents: engruiximent de la membrana basal, presència de material PAS-D positiu a membrana basal epidèrmica i vascular, presència de dipòsits de material Blau Alcà positiu a la dermis i elastosi.

L'engruiximent de la membrana basal epidèrmica i de la limitant vascular, els dipòsits de material PAS-D en aquestes membranes, i de material Blau Alcà positius a la dermis eren molt més intensos a la *pell exposada* que a la *pell protegida*, mentre que l'elastosi nomès s'observava en la primera localització.

Aquests canvis histopatològics concorden amb els descrits a la literatura (Baart de la Faille, 1975; Charles *i cols*, 1974; Cormane *i cols*, 1971; Epstein *i cols*, 1973; Eubanks *i cols*, 1973; Gianadda *i cols*, 1982; Grossman *i cols*, 1979; Harber i Bickers, 1975; Kint i de Bersaques, 1968; Kint i de Weert, 1978; Kemmer *i cols*, 1988; Köstler *i cols*, 1988; Muhlbauer i Pathak, 1979; Nonaka *i cols*, 1975; Ryan i Madill, 1968; Sekula *i cols*, 1986; Simon *i cols*, 1986; Tosti i Villardita, 1971; Wolff *i cols*, 1982).

No són patognomònics de les porfíries, i s'han descrit també a l'heliodermatitis crònica (Feldaker *i cols*, 1955; Grossman i Poh-Fitzpatrick, 1986; Kligman, 1986; Kumariki *i cols*, 1977; Lavker, 1979 i 1988; Montagna i Carlisle, 1979 i 1990) i al cronoenvelliment (Braverman i Fonferko, 1982a i 1982b; Smith 1989), com ja havia estat indicat anteriorment (Brunsting, 1954; Brunsting i Mason, 1949; Tosti i Villardita, 1971; Kint i de Weert, 1978).

L'engruiximent a nivell dels vasos de dermis superior, encara que també descrit a la *Porfiria cutanea tarda* (Tosti i Villardita, 1971), ha estat considerat per alguns autors com una expressió morfològica del cronoenvelliment, ja que l'han observat a zones de pell fotoprotegida d'individus sans a la setena dècada de la vida (Braverman i Fonferko, 1982a i 1982b; Nonaka *i cols*, 1975).

La comparació entre la presència de l'elastosi, presa com a paràmetre de dany actínic (Lavker, 1988) de la *pell exposada*, i la de les altres alteracions histopatològiques que hem descrit ens ha permès compro-

var les següents relacions. L'engruiximent vascular es relacionava en tots els casos amb la presència de l'elastosi actínica. No succeïa així amb l'engruiximent de la membrana basal epidèrmica, la positivitat de la mateixa a la tinció pel PAS-D, i la positivitat al Blau Alcià, pel qual s'ha de pensar que aquestes alteracions histològiques es devien al fotoenvelliment afavorit per les porfirines dipositades a la pell, i no al cronoenvelliment o a l'heliodermatitis crònica. El fet de que l'elastosi s'observés en individus de 42 i 44 anys d'edat, relativament joves confirmaria aquesta suposició, ja que encara que ocasionalment han estat descrites alteracions degeneratives de la dermis en edats tan precoces com són els 20 anys d'edat (Montagna i Carlisle, 1979 i 1990), s'ha indicat la seva aparició més precoçment en malalts amb porfíria que en individus sans en iguals condicions. Per tant, s'ha de prendre com una dada més de l'especial sensibilitat a la radiació solar que es dona en la porfíria (Tosti i Villardita, 1971).

Com ja hem comentat anteriorment, a la *pell protegida* no s'observà elastosi en cap de les mostres, però sí que es detectà engruiximent de la membrana epidèrmica, amb dipòsits PAS-D positius a membrana basal epidèrmica o a vasos. Aquestes troballes també han estat observades per altres autors en mostres de pell fotoprotegida de malalts amb *Porfiria cutanea tarda* (Epstein i cols, 1973), encara que sempre en menor intensitat que a pell fotoexposada, i podria explicar-se com a manifestacions secundàries al cronoenvelliment en alguns casos (Braverman i Fonferko, 1982a i 1982b), les quals difereixen quantitativament, que no qualitativa, amb les del fotoenvelliment (Braverman i Fon-

ferko, 1982b; Montagna i Carlisle, 1979 i 1990).

La presència del material Blau Alcà positiu a dermis a gairebé la meitat de les mostres cutànies d'aquesta localització, en una de elles de manera important, també ha estat referida a la literatura (Epstein *i cols*, 1973). En les pells actínicament malmeses augmenta la seva presència a la dermis, i es creu que aquests dipòsits són el testimoni de l'alteració del mecanisme de permeabilitat selectiva de la membrana vascular, reversibles amb la supressió del dany vascular (Tosti i Villardita, 1971).

A la pell fotoprotegida, però, els mucopolisacàrids àcids tendeixen a disminuir amb el cronoenvelliment (Kligman, 1986), per la qual cosa resulta paradòxica la seva detecció i podria creure's deguda a l'acció de les porfirines, com són els casos dels malalts més joves, ja que se sap que la URO posseeix efectes biològics independents de les seves propietats fotosensibilitzants (Varigos *i cols*, 1982).

No es comprovà que existís relació entre les troballes histopatològiques i els paràmetres clínics, això és, els nivells d'URO, el temps d'evolució i l'edat; a diferència del que s'ha descrit a altres porfíries de clínica aguda, com la *Protoporfíria eritropoietica*. En aquest tipus de porfíria s'ha vist que la quantitat de material PAS positiu perivascular a dermis superior està relacionada amb el temps d'evolució.

Aquest punt va a favor de la diferent acció fotosensibilitzant de les porfirines, depenent del nombre de grups carboxílics i la seva hidro o liposolubilitat (Nonaka *i cols*, 1975). Aquesta manca de relació podria ex-

plicar-se pel fet de que l'acció fototòxica de la porfíria depèn en gran part del grau d'exposició dels malalts a les radiacions solars, el fototipus cutani, així com la coneixença que de la malaltia en tenen els malalts.

Tot això comporta que hi hagi malalts porfírics que, presentant més temps d'evolució, puguin tenir menys lesions a nivell cutani i a nivell histològic. Un exemple seria el malalt nº 11, el qual amb més de quinze anys de malaltia presentava menys lesions cutànies agudes i menor alteració del col·lagen. Aquest malalt reconeixia que des que se li havia diagnosticat la porfíria havia evitat la ingesta alcohòlica i l'exposició a les radiacions solars, pel que si havia presentat en algun moment alteracions més intenses de la seva malaltia, aquestes podien haver minvat amb el temps. Hi ha referències sobre la millora que experimenten les lesions esclerodermiformes després d'haver-se instaurat un tractament correcte (Ramsay *i cols*, 1974) o fins i tot espontàniament (Simon *i cols*, 1986).

Per tant, la pell dels malalts porfírics presenta signes d'envelliment prematur que poden ser atribuïts a l'acció fotosensibilitzant de la URO, però el fet de trobar un cert grau d'alteració a la *pell protegida* fa pensar que les porfirines poden tenir una acció per elles mateixes sense necessitat d'una fotoinducció per la radiació ultraviolada.

El diferent comportament clínic i distint desenvolupament de les alteracions histopatològiques observades a la *Porfíria cutanea tarda* i les descrites a la *Protoporfíria eritropoietica* confirmen que el mecanisme fototòxic d'ambdues malalties metabòliques és diferent (Poh-Fitzpatrick, 1985).

B) La densitat de mastòcits per mm^2 a *pell exposada* era superior a la de la *pell protegida* de manera estadísticament significativa. Les densitats dels mastòcits de *pell protegida* concordava amb les donades com a normals (Binazzi i Rampichini, 1959; Cowen *i cols*, *i cols*, 1979; Hawkins *i cols*, 1985; Torinuki *i cols*, 1989).

Se sap que el nombre de mastòcits augmenta a la pell actínicament malmesa o irradiada amb UVA (Braverman i Fonferko, 1982b; Kerdel *i cols*, 1987; Kumariki *i cols*, 1977; Kligman, 1986; Lavker, 1988), distribuint-se difusament a la dermis i situant-se a la vora de les fibres elàstiques alterades (Braverman i Fonferko, 1982b; Lavker, 1988).

Per tant, l'augment en la densitat de mastòcits a la *pell exposada* podria deure's a un efecte directe de la radiació solar, sense que existís una contribució clara de les porfirines en els canvis histopatològics observats. De fet, i tal com hem dit abans, els malalts amb *Porfiria cutanea tarda* activa, és a dir, amb nivells sèrics d'URO elevats, tenen alteracions histopatològiques semblants a les que s'observen a l'heliodermitis crònica.

Malgrat això, el nombre de mastòcits de la *pell exposada* d'aquests malalts era major que l'observat a la mateixa localització de controls sans (Torinuki *i cols*, 1989) i que la *pell protegida* d'ells mateixos que empravem com a control; i a més, a més, augmentava progressivament amb nivells creixents d'URO, cosa que no succeïa a la *pell protegida*.

Per tant, el major nombre de mastòcits a la *pell exposada* dels nostres malalts respecte a la *pell protegida* podria estar més relacionat amb la

seva malaltia de base, estar afavorit per la radiació solar, i explicaria la major intensitat de les alteracions histològiques en aquella zona, independentment de l'edat.

El fet de que trobèssim que les peces histològiques de *pell exposada* amb alteració vascular (engruiximent de la paret vascular o dipòsits PAS +) tinguessin unes densitats superiors de mastòcits que les peces sense afectació vascular, confirmaria també, en part, la cascada de fets que provoca la fototoxicitat de les porfirines: activació del complement (Kamide *i cols*, 1984; Lim *i cols*, 1984; Lim i Gigli, 1981a i 1981b), generació de l'activitat quimiotàctica derivada del factor C5 (Lim *i cols*, 1984; Pigato *i cols*, 1985) i del C3 (Meurer *i cols*, 1985), activació dels mastòcits, increment de la permeabilitat capilar (Peterka *i cols*, 1965), dipòsits d'inmunoglobulines i de factor C3 en el material amorfe de la paret vascular (Kemmer *i cols*, 1988; Köstler *i cols*, 1988).

La interrelació entre mastòcits i fibròcits, (Courtoy i Boniver, 1989; Lavker, 1988) explicaria el que es desenvolupessin les lesions esclerodermiformes que s'observen a les porfíries d'afectació cutània, d'igual manera que a altres processos inflamatoris crònics i fibròtics, cutanis i visceral, tals com l'esclerodèrmia i la malaltia *d'empelt contra l'hoste*, per exemple (Asboe-Hansen, 1959; Atkins i Clark, 1987; Claman, 1985 i 1989a; Fleischmajer *i cols*, 1983; Hawkins *i cols*, 1985; Nishio-ka *i cols*, 1987; Rothe *i cols*, 1990), (Rothe *i cols*, 1990).

La densitat dels mastòcits a la *pell protegida* tendia a augmentar discretament amb l'edat dels malalts, a diferència del que havien indicat anteriorment altres autors (Hawkins *i cols*, 1985; Kligman, 1986; Marshall *i cols*, 1987; Mikhail i Miller-Milinska, 1964).

En el conjunt dels nostres malalts n'hi havia quatre que presentaven valors de mastòcits totals per mm² per sobre de la mitjana. A les mostres histopatològiques de la *pell protegida* d'aquests casos també s'observava un engruiximent de la paret vascular i/o positivitat al PAS-D, cosa que no s'observava en els altres malalts amb un nombre menor de mastòcits.

Encara que l'engruiximent de la paret vascular s'ha observat en les persones d'edat avançada de manera inespecífica (Braverman i Fonferko, 1982b, Lavker, 1988) i, de fet, tres dels malalts tenien 58a, 70a, 76a, difícilment podia explicar-se d'aquesta manera el cas n° 9, de només 37 anys d'edat. A més, les alteracions a la pell cronoenvellida no s'assòciem a la presència de cèl.lules inflamatòries (Braverman i Fonferko, 1982b).

Podria deduir-se de tot el que s'ha dit, doncs, que l'augment en el nombre de mastòcits junt a l'afectació vascular reflectia una afectació subclínica de la *pell protegida* d'aquests malalts.

En el nostre treball, i malgrat l'escàs nombre de mostres valorades, la densitat total de mastòcits tendia a ser major en les mostres de *pell exposada* (independentment del grau de fibrosi observat per histopato-

logia), que a *pell protegida*. A més el recompte per nivells de profunditat detectava un discret augment del nombre de mastòcits a nivell de dermis papil·lar a les mostres valorades histopatològicament com de *fibrosi inicial*.

La nostra observació és semblant a la d'altres autors. Torinuki *i cols* (1989), per exemple, comparaven la densitat de mastòcits a la pell fotoexposada de porfírics amb la de nou malalts amb esclerodèrmia en una fase tardana de fibrosi, i comprovaven que la densitat, a la pell fotoexposada dels malalts amb *Porfíria cutanea tarda*, era major que la dels malalts amb esclerodèrmia, mentre que en aquestes mostres els nivells de mastòcits a l'esclerodèrmia era semblant a la dels controls sans.

La presència de mastòcits suggereix que la *pell exposada* dels malalts amb *Porfíria cutanea tarda* presenta una afectació subclínica, molt semblant a la que s'observa a l'heliodermatitis crònica, però en major intensitat.

Les mostres valorades des del punt de vista histopatològic com a *fibrosi establerta* probablement no havien finalitzat el seu procés esclerosant, ja que perdurava un nombre elevat de mastòcits a tots els nivells (en comparació a la *pell protegida*), i també, a les mostres valorades com a *fibrosi inicial*.

Aquest fet ha estat comentat a la literatura referit a l'esclerodèrmia. La presència i la densitat dels mastòcits en el infiltrat cel·lular a l'esclerodèrmia s'ha comprovat que varia segons la fase de fibrosi de la

malaltia. Així, Hawkins *et al* (1985) i Nishioka *et al* (1987) havien observat que les majors densitats de mastòcits es donaven a nivell de derma papil·lar i a les fases inicials de l'esclerosi, encara que també hi havia densitats elevades de mastòcits a dermis reticular a les fases inicials.

La densitat de mastòcits a *pell exposada* tendia a augmentar amb temps d'evolució creixents. Aquest fet encara que en un principi sembla estar en desacord amb l'observació de Hawkins *et al* (1985) a l'esclerodèrmia (on a fases tardanes disminuïa el nombre de mastòcits), podria explicar-se pel curt temps d'evolució d'aquests malalts, a excepció del cas nº 10 (menys de 3 anys d'evolució de la malaltia), i confirma el supòsit de que les lesions esclerodermiformes en aquests malalts es presenta en les darreres fases de la malaltia.

Els nivells d'URO poden variar dia a dia en un mateix individu, pel que encara que s'ha indicat que les lesions esclerodermiformes es veuen en malalts amb excreció més elevada de porfirines a l'orina (Simon *et al* , 1986), no és sorprenent el no trobar-hi una relació amb el grau de fibrosi detectat per histopatologia.

5.3. ESTUDI ULTRAESTRUCTURAL

La mida dels diàmetres de les fibres de col.lagen de la dermis del malalt amb *Porfiria cutanea tarda* és un fet escasament comentat a la literatura. S'ha descrit la presència de fibres més primes a la dermis de la pell fotoexposada d'aquests malalts (Köstler *i cols*, 1988), i un patró *bimodal* degut a la intercalació de fibres de diàmetres inferiors als normals en mig de fibres de mida normal (Parra i Pizzi de Parra, 1979; Simon *i cols*, 1986).

La mitjana del diàmetres de les fibres de col.lagen de la *pell protegida* dels malalts del nostre estudi estava dintre els límits normals referits a la literatura (Fleischmajer *i cols*, 1972b; Gross i Schmitt, 1948; Hashimoto, 1967), i com és sabut que el contingut de col.lagen és igual a qualsevulla zona de la superfície corporal (Schuster *i cols*, 1975), es va prendre aquesta com a control.

Per tal de poder valorar més acuradament el grau d'afectació del col.lagen de la *pell exposada* respecte a la *pell protegida*, es calculà la reducció del diàmetre de les fibres de la *pell exposada* de cada cas en comparació amb el de *pell protegida*, donant el valor en percentages.

La mesura del diàmetres de les fibres de col.lagen de la dermis de la *pell exposada* donà una mitjana significativament inferior a la de la *pell protegida*, essent la diferència més intensa en els individus de més de 50 anys d'edat.

Aquesta diferència entre els diàmetres de les fibres de *pell exposada* versus les de *pell protegida* no pot atribuir-se d'entrada a la *Porfiria cutanea tarda* sinó, més aviat, a l'acció de la radiació solar. S'ha vist que la irradiació crònica d'animals d'experimentació no provoca la destrucció de les fibres de col.lagen, sinó la formació de nombroses fibres de petit diàmetre, sintetitzades probablement de nou (Lavker, 1988), amb augment del col.lagen de molècula tipus III i disminució del col.lagen total (Kligman *i cols*, 1989b). Zheng i Kligman (1993) descriuen la presència de fibres de petit diàmetre en els animals d'investigació irradiats crònicament amb UVA, i diàmetres més petits encara, en els animals irradiats amb UVB. La disminució del col.lagen madur a les pells fotoenvellides s'ha dit que podria ser deguda a una hidrolització enzimàtica desencadenada per les cèl.lules inflamatòries que acompanyen l'heliodermatitis crònica (Kligman, 1986 i 1989a), més que un dany actínic directe sobre les fibres de col.lagen.

Aquesta troballa concorda amb les descripcions histològiques de la pell fotoexposada dels malalts amb *Porfiria cutanea tarda*, on es descriu la presència d'una elastosi important que no s'observa en altres tipus de porfíries; i concorda amb la suposició de que la radiació solar en aquests malalts provoca una alteració més quantitativa que qualitativa del dany actínic (Poh-Fitzpatrick, 1986a).

La diferència entre els diàmetres de les fibres de col.lagen de la *pell exposada* versus els de la *pell protegida* es feia menys evident en el decurs de la malaltia i amb nivells creixents d'URO.

Es coneix que en algunes metabolopaties, tals com la Diabetis mellitus, el col.lagen segueix un cicle metabòlic més ràpid. El col.lagen format de nou és menys estable que el preexistent, i les fibres pateixen la fixació de la glucosa sobre els grups amino lliures, la qual cosa comporta un augment del col.lagen amb enllaç creuat i, per tant, un augment de la mida dels diàmetres de les fibres (Hanna *i cols*, 1987).

La relació entre Diabetis mellitus i *Porfiria cutanea tarda* ha estat ampliament comentada a la literatura. De fet, i tal com hem dit abans, hi ha autors que suggereixen que la Diabetis mellitus pot ser un antecedent a valorar en la *Porfiria cutanea tarda*, mentre que altres creuen que la Diabetis mellitus podria ser el resultat del defecte metabòlic de la porfíria, ja que a part de la Diabetis mellitus, s'han detectat alteracions en la tolerància la glucosa en els malalts amb *Porfiria cutanea tarda* (Burnham i Fosnaugh, 1961).

Se sap, a més a més, que la URO estimula la formació de col.lagen (Varigos *i cols*, 1982), i que provoca l'oxidació i formació d'enllaços creuats en les proteïnes de membrana (Kohn i Kessel, 1979).

L'augment en el diàmetre de les fibres que es produeix en el curs de la malaltia, donada la relació amb els nivells d'URO, i no podent-se atribuir a l'heliodermatitis, ha de ser fruit de la metabolopatia que patien els malalts, no podent-se descartar totalment, però, un estat hiperglicèmic latent que hi contribuís; i concorda, a més, amb les descripcions de "tumefacció" de les fibres de col.lagen de les lesions esclerodermiformes de la *Porfiria cutanea tarda*, senyalades anteriorment

per alguns autors (Köstler *i cols*, 1988; Simon *i cols*, 1986).

Malgrat aquests canvis d'augment per una banda, i disminució per l'altra, en els diàmetres de les fibres de col.lagen de la dermis de la *pell exposada*, només s'observà un cas de *bimodalitat* clara.

La distribució *bimodal* ha estat detectada en la *Porfiria cutanea tarda* (Simon *i cols*, 1986), així com en processos de regeneració (Fernando i Movat, 1963) i de fibrosi, com són les lesions de la morfea i les de l'esclerodèrmia (Fleischmajer i Prumiera, 1972a; Fleischmajer *i cols*, 1972b i 1978; Kobayasi i Asboe-Hansen, 1972 i 1974; Hanna *i cols*, 1987). Aquest fenomen seria el resultat d'una mescla de fibres de diferents mides de col.lagen. Les més petites es formarien a les fases inicials de la resposta fibroproliferativa degut a una fibrillogenèsi activa (Hayes i Rodnan, 1971), fibres de col.lagen tipus III (Gay i Miller, 1978; Perlish i Lemlich, 1988), i que quedarien diposades en el teixit en mig de fibres de mida normal.

També s'ha dit si seria secundari a un procès de maduració del col.lagen (Kint i de Weert, 1978), havent-se descartat el que fos degut a la degradació enzimàtica de les fibres de mida gran (Uitto *i cols*, 1979), a diferència del que s'ha postulat a l'heliodermatitis crònica (Kligman, 1986 i 1989a).

En el nostre estudi, la *bimodalitat* es detectà aïlladament tant a *pell exposada* com a *pell protegida*, no quedant clar el perquè de la seva detecció, ja que no es pogué relacionar amb cap paràmetre clínic o de laboratori.

El recompte de fibres també donà diferències entre ambdues àrees. A la *pell exposada* les mitjanes eren majors que a la *pell protegida*.

La presència d'un major nombre de fibres a la *pell exposada* concorda amb una fibril·logènesi activa. Malgrat això, hi havia una tendència a que el nombre de fibres disminuís progressivament en el decurs de la malaltia, conjuntament amb l'engruiximent de les fibres i amb l'augment del nombre de mastòcits.

Si tenim en compte el que s'ha dit abans, podríem explicar les variacions i relacions que s'observen en el nombre de fibres de la següent manera: A la *pell exposada* dels malalts amb *Porfiria cutanea tarda* es produeix una reacció fototòxica en la qual intervenen de manera important els mastòcits, i que comporta la destrucció de fibres de diàmetre normal, i la formació d'un gran nombre de fibres de petita mida, probablement de molècula de col·lagen tipus III. Aquests col·lagen format de nou és molt làbil i requereix de la formació d'enllaços creuats irreductibles per a persistir. Per tant, es produeix un augment en el nombre d'enllaços creuats, amb un augment progressiu de les fibres de diàmetres majors, facilitat per la presència de la URO. Es a dir, es produeix un efecte dinàmic en el metabolisme del col·lagen d'aquesta zona.

A la *pell protegida* el nombre de fibres i el diàmetre de les mateixes mostren una tendència a augmentar discretament amb l'edat, cosa que ja concorda amb el procés fisiològic del cronoenvelliment. L'acció de la URO no queda aquí confirmada, a diferència del que podia suposar-se a

l'estudi histopatològic. No s'observa una relació entre les variacions dels diàmetres i nombre de fibres amb els nivells d'URO i les densitats de mastòcits, per la qual cosa sembla evident de que és necessària l'acció de la radiació solar per a que es produeixin canvis importants. A més els resultats obtinguts en aquesta àrea qüestionen l'acció fibril·logènica de la URO (Varigos *i cols*, 1982). El nombre de fibres disminueix amb nivells creixents d'URO, mantenint-se les mides dels diàmetres estables. Malgrat això, s'observa que hi ha una tendència a ambdós paràmetres s'incrementin en el decurs de la malaltia i, a més el nombre de fibres augmenti amb densitats de mastòcits creixents.

Aquests resultats indicarien que a la *pell protegida* dels malalts amb *Porfiria cutanea tarda* es produeixen modificacions diferents a la fototòxia que es dona a la *pell exposada*, i que possiblement es dona una afectació subclínica de les àrees fotoprotegides que a curt termini provoca un augment de la proporció d'enllaços creuats reductibles per una síntesi de col·lagen elevada; i que a llarg termini produeix una maduració més ràpida d'aquest col·lagen, amb desaparició dels enllaços reductibles, i increment del nombre de fibres de major mida, tal com s'ha també descrit a les lesions de l'esclerodèrmia (Herbert *i cols*, 1974).

A la *pell exposada* la mitjana dels diàmetres de les fibres de col·lagen era clarament inferior a la mitjana de les fibres de *pell protegida*. Correspondrien a fibres de col·lagen de molècula tipus I, ja que malgrat que els valors són discretament menors que els referits a la literatura, aquesta petita diferència és del mateix ordre dels que s'obtingueren a

la *pell protegida*, i podria deure's, també, a diferències a l'aplicació de la tècnica emprada.

Malgrat això, ja ha estat descrita la presència de fibres de col.lagen més primes a la dermis de la pell fotoexposada de malalts amb *Porfiria cutanea tarda* (Köstler *i cols*, 1988). Així Kint i de Weert (1978) troben fibres de 50 a 110nm de diàmetre a pell fotoexposada de 6 malalts amb *Porfiria cutanea tarda*; mentre que altres autors (Parra i Pizzi de Parra, 1979; Simon *i cols*, 1986) descriuen un alt percentatge de fibres de 10 a 30nm de diàmetre aproximadament, entre fibres de col.lagen de mida normal, en una distribució anomenada bimodal. Les fibres de petita mida correspondrien a les formades per molècules de col.lagen tipus III (Fleischmajer *i cols*, 1978, Perlish i Lemlich, 1988).

Hayes i Rodnan (1971) indicaven, a propòsit de la comparació de dos malalts estudiats amb esclerodèrmia amb diferents temps d'evolució i intensitat de malaltia, que el casos de llarga evolució (anys) presentaven un major percentatge de fibres de petita mida que els malalts amb una evolució més curta (mesos).

L'afectació del col.lagen, quant al diàmetre, encara que atribuïble per una banda al fotoenvelliment, seria possible gràcies a que la metabolopatia es presenta en edats més tardanes, i els malalts tenen un major temps d'exposició solar abans no són conscients de la seva malaltia (Wolff *i cols*, 1982); i per altra banda l'acció fototòxica de les porfirines, amb una alteració del procés de maduració del col.lagen (Kint i de Weert, 1978).

El trobar un increment del nombre de fibres amb l'edat resulta paradòxic, ja que s'ha comprovat que els fibroblasts tenen una activitat fibril·logènica menor (Uitto *i cols*, 1989), i una major expressió de l'activitat col·lagenolítica en les persones d'edat, havent-se confirmat una pèrdua progressiva i mantinguda del col·lagen dèrmic total amb els anys (Smith, 1989; Lavker, 1986).

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

1.1. En els malalts de *Porfiria cutanea tarda* les alteracions histopatològiques que es troben a la *pell protegida* són similars, encara que en menor grau, a les que es troben a la *pell exposada*. Aquestes alteracions consisteixen en un engruiximent de la membrana basal i de la paret vascular, i dipòsits de substància PAS-D a ambdues membranes, i de material Blau alcià positiu a la dermis. L'elastosi, però, només es troba present a les mostres de la *pell exposada*.

1.2. Aquestes troballes són semblants a les que s'observen a l'heliodermatitis crònica i al cronoenvelliment. La manca de correlació entre les alteracions histopatològiques esmentades i l'elastosi (considerada com a marcador del dany actínic crònic), indica que aquelles probablement són determinades en part per les porfirines hidrofíliques presents a la pell.

1.3. La presència d'aquestes alteracions a la *pell protegida*, és un argument a favor de la suposada acció no fotodepenent de les porfirines.

2. No s'ha trobat relació entre les alteracions histopatològiques esmentades i els paràmetres clínics (edat, temps d'evolució, nivells d'URO).

3.1. La densitat de mastòcits de les mostres de *pell exposada* és superior a la de la *pell protegida*, a tots els nivells dèrmics.

3.2. Existeix una correlació entre la densitat de mastòcits a la *pell exposada* i l'alteració vascular (engruiximent de la paret vascular, i dipòsits de substància PAS-D).

3.3. La correlació que es troba a la *pell protegida* entre densitat de mastòcits i afectació de la paret vascular, (engruiximent i/o dipòsit de material PAS-D), donaria suport a l'acció no fotodepenent de les porfirines.

3.4. El nombre de mastòcits a la *pell exposada* augmenta conjuntament amb els nivells de la URO.

3.5. Les majors densitats de mastòcits a la *pell exposada* es troben als nivells superiors de la dermis i a les fases de *fibrosi inicial* valorada histològicament.

Prenent aquests apartats darrers, podem dir que el major nombre de mastòcits detectat a la *pell exposada*, a més de poder ser el resultat d'un fotoenvelliment precoç induït per les porfirines presents en aquesta àrea, determina que es desenvolupin les lesions esclerodermiformes. Aquestes darreres s'observen en els malats amb *Porfíria cutanea tarda* de llarg temps d'evolució, per un mecanisme similar al que ja es coneix en altres malalties fibrosants com és l'*esclerodèrmia*, la *síndrome d'eosinofília-miàlgia* i la *malaltia de l'empelt contra l'hoste*.

3.6. La *fibrosi establerta* histològica no és totalment coincident amb els estadis de la fibrosi clínica. A la *pell exposada* existeix una correlació entre la densitat de mastòcits i el temps d'evolució, que no s'observa a la *pell protegida*. Aquest fet, junt amb l'observació de que les mostres valorades histològicament com a *fibrosi establerta* mostren també una densitat superior a les de la *pell protegida*, indica que el procés inflamatori es manté actiu en el decurs de la malaltia.

4.1. Els diàmetres de les fibres de col.lagen de la *pell exposada* dels malalts amb *Porfiria cutanea tarda* són menors que els de les de la *pell protegida*.

4.2. Les fibres de *pell exposada* són més primes en el cronoenvelliment, i s'apropen als valors normals en el decurs de la malaltia, amb els increments dels nivells d'URO i de les densitats dels mastòcits.

4.3. El patró bimodal dels diàmetres de les fibres de col.lagen és un fenomen infreqüent en la *pell exposada* de la *Porfiria cutanea tarda*.

4.4. El nombre de fibres a la *pell exposada* era major que el de la *pell protegida*.

5. Per tot això podem dir que l'afectació histopatològica i ultraestructural de la *pell exposada* de la *Porfiria cutanea tarda* és semblant a la que es produeix al fotoenvelliment, havent probablement afectació subclínica de la *pell protegida*, secundari a un augment del nombre de mastòcits i dels nivells d'URO que pot a la llarga conduir a la fibrosi.

BIBLIOGRAFIA

7. BIBLIOGRAFIA

Allison AC, Magnus IA, Young MR. Role of lysosomes and cell membranes in photosensitization. *Nature*. 1966. 209: 874-878.

Asboe-Hansen G. Scleroderma in carcinoid syndrome. *Acta Derm Venereol (Stockh)*. 1959. 39:270-273.

Asha Rathi N, Asokan R, Chandrakasan G. In vivo glycosylation of dermal and tendon type I collagen. *Biochem Med Metab Biol*. 1989. 11:70-76.

Atkins FM, Clark RAF. Mast cells and fibrosis. *Arch Dermatol*. 1987. 123:191-193.

Baart de la Faille H. Erythropoietic protoporphyria. A photodermatosis. Dosthock, Scheltrema, Holkema. Utrecht, 1975.

Baart de la Faille H, Beerens EGJ, Van Weelden H, Berrens L. Complement components in blood serum and suction blister fluid in erythropoietic protoporphyria. *Br J Dermatol*. 1978. 99:401-404.

Baron O, Thivolet J, Faure M, Mauduit G. Porphyrie cutanée tardive et Kératoconjunctivite. *Ann Dermatol Venereol*. 1983. 110: 841-842.

Belongia EA, Hedberg CW, Gleich GJ, White KE, Mayeno AN, Loegering DA, Dunnette SL, Pirie PL, Mac Donald KL, Osterholm MT. An investigation of the cause of the eosinophilia-myalgia syndrome associated with triptophan use. *N Engl J Med*. 1990. 323:357-365.

Bickers DR. Porphyria, Basic science aspects. *Dermatologic Clinics*. 1986. 4:277-290.

Binazzi M, Rampichini L. Investigations on the regional distributions of mast cells in human skin. *Ital Gen Rev Derm*. 1959. 1:17-21.

Bissett DL, Hannon DP, Orr TV. An animal model of solar-aged skin: Histological, physical, and visible changes in UV-irradiated hairless mouse skin. *Photochem Photobiol*. 1987. 46:367-378.

Bopp C, Peres M, Kosminski B, Azambuja MA, Bakos L. Porfiria cutânea tarda esclerodermiforme, asociada com catarata. *Med Cut ILA*. 1975. 2:149-160.

Borda JM, Abulafia J, Solá O. Conectivosis porfíricas. A propósito de la mucoidosis y la polifibromatosis. *Arch Arg Derm*. 1963. 4:401-421.

- Braverman IM, Fonferko E. Studies in cutaneous aging: I. The elastic fiber network. *J Invest Dermatol.* 1982a. 78:434-443.
- Braverman IM, Fonferko E. Studies in cutaneous aging: II. The microvasculature. *J Invest Dermatol.* 1982b. 78:444-448.
- Brennan M. Changes in the cross-linking of collagen from rat tail tendon due to diabetes. *J Biol Chem.* 1989. 264:20953-20960.
- Brunsting LA, Mason HL. Porphyria with cutaneous manifestations. *Arch Dermatol Syph.* 1949. 60:66-79.
- Brunsting LA. Observations on Porphyria cutanea tarda. *Arch Dermatol Syph.* 1954. 70:551-564.
- Buckingham RB, Prince RK, Rodnan GP, Taylor F. Increased collagen accumulation in dermal fibroblast cultures from patients with progressive systemic sclerosis (scleroderma). *J Lab Clin Med.* 1978. 92:5-21.
- Burnham TK, Fosnaugh RP. Porphyria, Diabetes and their relationship. *Arch Dermatol,* 1961. 83: 55-60.
- Caputo R, Berti E, Gasparini G, Monti M. The morphologic events of blister formation in Porphyria cutanea tarda. *Int J Dermatol.* 1983. 22:467-472.
- Charles CR, Beidler JG, Johnson BL. Erythropoietic Protoporphyrria. *Arch Pathol.* 1974. 97:79-83.
- Chatterjee R, Benzinger MJ, Ritter JL, Bissett DL. Chronic ultraviolet B radiation-induced biochemical changes in the skin of hairless mice. *Photochem Photobiol.* 1990. 51:91-97.
- Claman HN. Mast cells and fibrosis. *Rheum Dis Clin North Am.* 1990. 16:141-152.
- Claman HN. Mast cell changes in a case of rapidly progressive scleroderma. Ultrastructural analysis. *J Invest Dermatol.* 1989a. 92:290-295.
- Claman HN. Mast cell depletion in murine chronic Graft-versus-Host-Disease. *J Invest Dermatol.* 1985. 84:246-248.
- Claman NH. On scleroderma. Mast cells, endothelial cells and fibroblasts. *JAMA.* 1989b. 262:1206-1209.
- Clauw DJ, Nashel DJ, Umhau A, Katz P. Tryptophan-associated eosinophilic connective-tissue disease. A new clinical entity?. *JAMA.* 1990. 263:1502-1506.



- Coppola A, Viggiani E, Salzarulo L, Rasile G. Ultrastructural changes in lymphoma cells treated with hematoporphyrin and light. *Am J Pathol.* 1980. 99:175-192.
- Cormane RH, Szabó E, Tiong Hoo T. Histopathology of the skin in acquired and hereditary Porphyria cutanea tarda. *Br J Derm.* 1971. 85:531-539.
- Courtoy R, Boniver J. Mast cells and fibroblasts: a synopsis. En: *The Dermis. From biology to diseases.* Pièrard GE i Pièrard-Franchimont C (eds). Clarté, Herstal. Belgium, 1989. pp13-32.
- Cowen T, Trigg P, Eady RAJ. Distribution of mast cells in human dermis: Development of a mapping technique. *Br J Derm.* 1979. 100:635-640.
- De Campos Vidal B, de Carvalho HF. Aggregational state and molecular order of tendons as a function of age. *Matrix.* 1990. 10:48-57.
- Doyle JA, Connolly SM, Winkelman RK. Cutaneous and subcutaneous inflammatory sclerosis syndromes. *Arch Dermatol.* 1982. 118:886-890.
- Doyle JA, Friedman SJ. Porphyria and scleroderma: A clinical and laboratory review of 12 patients. *Aust J Derm.* 1983. 24:109-114.
- El Nabout R, Martin M, Remy J, Kern P, Robert L, Lafuma C. Collagen synthesis and deposition in cultured fibroblasts from subcutaneous radiation-induced fibrosis. Modifications as a function of cell aging. *Matrix.* 1989. 9:411-420.
- Enriquez de Salamanca R, Chinarro S, Valls V, Muñoz JJ, Perpiné J, Berges L, Pascual R, Olmos A. Porfiria cutánea tarda. *Endocrinología.* 1982.
- Epstein JH, Redeker AG. Porphyria cutanea tarda. A study of the effect of phlebotomy. *N Engl J Med.* 1968. 271:1301-1304.
- Epstein JH, Tuffanelli DL, Epstein WL. Cutaneous changes in the Porphyrias. *Arch Dermatol.* 1973. 107:689-698.
- Eubanks SW, Patterson JW, May DL, Aeling JL. The Porphyrias. *Int J Derm.* 1983. 22:337-347.
- Falanga V, Soter NA, Kerdel FA. Increased plasma histamine level in eosinophilic fasciitis. *Arch Dermatol.* 1989. 125:805-808.
- Farr PM, Friedman PS. Solar radiation-induced disorders. En: *Scientific Basis of Dermatology, a physiological approach.* Thody AJ, Friedman PS (ed). Churchill, Livingstone 1986. pp262-263.

- Feldaker M, Montgomery H, Brunsting LA. Histopathology of Porphyria cutanea tarda. *J Invest Dermatol.* 1955. 24:131-137.
- Fernando NVP, Movat HZ. Fibrillogenesis in regenerating tendon. *Lab Invest.* 1963. 12:214-229.
- Fertin C, Nicolas JF, Gillery P, Kalis B, Bauchereau J, Maquart FX. Interleukin-4 stimulates collagen synthesis by normal and scleroderma fibroblasts in dermal equivalents. *Cell Mol Biol.* 1991. 37:823-829.
- Fleischmajer R, Damiano V, Nedwich A. Alteration of subcutaneous tissue in Systemic Scleroderma. *Arch Dermatol.* 1972b. 105:59-66.
- Fleischmajer R, Faludi G. A study of carbohydrate metabolism in scleroderma. *J Invest Dermatol.* 1969. 52:326-328.
- Fleischmajer R, Gay S, Meigel WN, Perlish JS. Collagen in the cellular and fibrotic stages of scleroderma. *Arthritis Rheum.* 1978. 21:418-427.
- Fleischmajer R, Perlish JS, West WP. Ultrastructure of cutaneous cellular infiltrates in scleroderma. *Arch Dermatol.* 1977. 113:1661-1666.
- Fleischmajer R, Perlish JS, Buergeson RE, Shaikh-Bahai F, Timpl R. Hybridation of type I and III collagen within single fibrils. *J Invest Dermatol.* 1988. 90:559.
- Fleischmajer R, Perlish JS, Krieg T, Timpl R. Variability in collagen and fibronectin synthesis by scleroderma fibroblasts in primary culture. *J Invest Dermatol.* 1981. 76:400-403.
- Fleischmajer R, Perlish JS, Shaw KV, Pirozzi DJ. Skin capillary changes in early systemic scleroderma. *Arch Dermatol.* 1976. 112:1553-1557.
- Fleischmajer R, Pruniera M. II: Electron Microscopy of Collagen, Cells and the Subcutaneous tissue. *Arch Dermatol.* 1972a. 16:515-524.
- Fleischmajer R, Perlish JS, Duncan M. Scleroderma. A model for Fibrosis. *Arch Dermatol.* 1983. 119:957-962.
- Gay RE, Buckingham RB, Prince RK, Gay S, Rodnan GP, Miller EJ. Collagen types synthesized in dermal fibroblast cultures from patients with early progressive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1980. 23:190-196.
- Gay S, Miller EJ. Distribution and disposition of collagens in connective tissues. En: *Collagen in the Physiology and Pathology of Connective Tissue.* Gustav Fisher Inc. Stuttgart-NY 1978. pp46-62.

Gianadda B, Gianadda E, Leonetti F, Topi GC. Calcifications au cours d'une Porphyrie cutanée tardive sclérodermiforme. *Ann Dermatol Venereol (Paris)*. 1982. 109:75-78.

Gigli I, Schothorst AA, Soter NA, Pathak MA. Erythropoietic Protoporphyrin. Photoactivation of the Complement System. *J Clin Invest*. 1980. 66:517-522.

Gross J, Schmitt FO. The structure of human skin collagen as studied with the electron microscope. *J Exp Med*. 1948. 88:555-567.

Grossman ME, Bickers DR, Poh-Fitzpatrick MB, Deleo VA, Harber LC. Porphyria cutanea tarda. Clinical features and laboratory findings in 40 patients. *Am J Med*. 1979. 67:277-286.

Grossman ME, Poh-Fitzpatrick MB. Porphyria cutanea tarda. Diagnosis, management and differentiation from other Hepatic Porphyrias. *Dermatologic Clinics*. 1986. 4:297-309.

Hanna W, Friesen D, Bombardier C, Gladman D, Hanna A. Pathologic features of diabetic thick skin. *J Am Acad Dermatol*. 1987. 16:546-553.

Harber LC, Bickers DR. The Porphyrias: Basic science aspects, clinical diagnosis and management. En: *Year Book of Dermatology*. Chicago, 1975. pp9-46.

Harber LC, Poh-Fitzpatrick MB, Walther RR, Grossman ME. Cutaneous aspects of the porphyrias. *Acta Derm Venereol (Stockh)*. 1982. 100 supp:9-15.

Hashimoto K. Fibroblast, collagen and elastin. En *Ultrastructure of normal and abnormal skin*. AS Zelikson (ed). Philadelphia, Lea and Febiger, 1967. pp228-260.

Haustein UF, Ziegler V, Herrmann K, Mehlhorn J, Schmidt C. Silica-induced scleroderma. *J Am Acad Dermatol*. 1990. 22:444-448.

Hawkins CW, Bickers DR, Mukhtar H, Elmers CA. Cutaneous Porphyrin Photosensitization: Murine ear swelling as a marker of the acute response. *J Invest Dermatol*. 1986. 86:638-642.

Hawkins RA, Claman HN, Clark RAF, Steigerwald JC. Increased dermal mast cell populations in progressive systemic sclerosis: A link in chronic fibrosis. *Ann Int Med*. 1985. 102:182-186.

Hayes RL, Rodnan GP. The ultrastructure of skin in progressive systemic sclerosis (Scleroderma). *Am J Pathol*. 1971. 63:433-440.

He D, Esquenazi-Behar S, Soter NA, Lim HW. Mast-cell heterogeneity: Functional comparison of purified mouse cutaneous and peritoneal mast cells. *J Invest Dermatol.* 1990. 94:178-185.

Herbert CM, Lindberg KA, Jayson MIV, Bailey AJ. Biosynthesis and maturation of skin collagen in scleroderma, and effect of D-penicillamine. *Lancet.* 1974. 2:187-192.

Herrero C. Porfirias. En *Monografía de Dermatología (vol II)*. Jarpyo Ed. SA. 1989. pp35-44.

Herrero C. Caracterización bioquímica de la Porfiria cutanea tarda. Hepatopatía porfírica. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona. 1979.

Jablonska S, Szczepanski A. Lésions sclérodermiformes dans la porphyrie cutanée. *Ann Dermatol.* 1963. 90:240-258.

Kahaleh MB, LeRoy EC. Interleukin-2 in scleroderma. Correlation of serum level with extent of skin involvement and disease duration. *Ann Int Med.* 1989.110:446-450.

Kalb RE, Grossman ME, Poh-Fitzpatrick MB. Correlation of serum and urinary porphyrin levels in Porphyria cutanea tarda. *Arch Dermatol.* 1985. 121:1289-1291.

Kamide R, Gigli I, Lim HW. Participation of mast cells and complement in the immediate phase of hematoporphyrin-induced phototoxicity. *J Invest Dermatol.* 1984. 82:485-490.

Kaufman LD, Seidman RJ, Phillips ME, Gruber BL. Cutaneous manifestations of the L-tryptophan-associated eosinophilia-myalgia syndrome: A spectrum of sclerodermatous skin disease. *J Am Acad Dermatol.* 1990. 23:1063-1069.

Keene DR, Sakai LY, Bächinger HP, Burgeson RE. Type III collagen can be present on banded collagen fibrils regardless of fibril diameter. *J Cell Biol.* 1987. 105:2393-2402.

Kemmer C, Reitmann I, Köstler E, Riedel H. Das morphologische Hautschadensbild der Porphyria cutanea tarda (Pct). *Zentralbl allg Pathol pathol Anat.* 1988. 134:227-234.

Kerdel FA, Soter NA, Lim HW. In vivo mediator release and degranulation of mast cells in hematoporphyrin derivative-induced phototoxicity in mice. *J Invest Dermatol.* 1987. 88:277-280.

Kint A, De Weert J. Vergleichende morphologische Untersuchung von Porphyria cutanea tarda und erythropoetischer Protoporphyrurie. *Hautz.* 1978. 29:198-204.

- Kint A, de Bersaques J. Alterations des capillaires dans la Porphyrie cutanée tardive. *Arch Belges Dermat Syph.* 1968. 24:349-355.
- Kligman LH. Photoaging. Manifestations, prevention and treatment. *Dermatologic Clinics.* 1986. 4:517-528.
- Kligman LH. The ultraviolet-irradiated hairless mouse: A model for photoaging. *J Am Acad Dermatol.* 1989a. 21:623-631.
- Kligman LH, Gebre M, Alper R, Kefalides NA. Collagen metabolism in ultraviolet irradiated hairless mouse skin and its correlation to Histochemical observations. *J Invest Dermatol.* 1989b. 93: 210-214.
- Kobayasi T, Asboe-Hansen G. Ultrastructure of generalized scleroderma. *Acta Derm Venereol (Stockh).* 1972. 52:81-93.
- Kobayasi T, Asboe-Hansen G. Ultrastructural changes in the inflammatory zone of localized scleroderma. *Acta Derm Venereol (Stokh).* 1974. 54:105-112.
- Kohn K, Kessel D. On the mode of cytotoxic action of photoactivated porphyrins. *Biochem Pharmacol.* 1979. 28:2465-2470.
- Konrad K, Hönigsmann H, Gschnait F, Wolff K. Mouse model for Protoporphyrin. *J Invest Dermatol.* 1975. 65:300-310.
- Köstler VE, Riedel H, Kemmer C, Reitmann I, Bäßler E. Untersuchungen zu den kutanen Veränderungen der Porphyria cutanea tarda, *Dermatol Mon schr.* 1988. 174:272-279.
- Krejci NC, Knapp DM, Rudd RJ, Bauer EA, Mc Guire J. Dermal mast cell granules bind interstitial procollagenase and collagenase. *J Invest Dermatol.* 1992. 98:748-752.
- Krieg T, Müller PK, Goerz G. Fibroblasts from a patient with scleroderma reveal abnormal metabolism. *Arch Derm Res.* 1977. 259:105-107.
- Krieg T, Luderschmidt C, Weber L, Müller PK, Braun-Falco O. Scleroderma fibroblasts: Some aspects of in vitro assessment of collagen synthesis. *Arch Dermatol Res.* 1981. 270:263-272.
- Kulozik M, Krieg T. Veränderungen des kollagenen Bindegewebes und der Fibroblasten während des Alterns. *Z Hautkr.* 1989. 64:1003-1004.
- Kumakiri M, Hashimoto K, Willis I. Biologic changes due to long-wave ultraviolet irradiation on human skin: Ultrastructural study. *J Invest Dermatol.* 1977. 69:392-400.
- Kurban RS, Bhawan J. Histologic changes in skin associated with aging. *J Dermatol Surg Oncol.* 1990.16:908-914.

- Lavker RM. Structural alterations in exposed and unexposed aged skin. *J Invest Dermatol.* 1979. 73:59-66.
- Lavker RM. Chronic heliodermatitis: A morphologic evaluation of chronic actinic dermal damage with emphasis on the role of mast cells. *J Invest Dermatol.* 1988. 90:325-330.
- Lavker RM, Zheng P, Dong G. Morphology of aged skin. *Dermatologic Clinics.* 1986. 4:379-389.
- LeRoy EC. Connective tissue synthesis by scleroderma skin fibroblasts in cell culture. *J Exp Med.* 1972. 135:1351-1362.
- LeRoy EC. Increased collagen synthesis by scleroderma skin fibroblasts in vitro. *J Clin Invest.* 1974. 54:880-889.
- LeRoy EC. Pathogenesis of Scleroderma (Systemic Sclerosis). *J Invest Dermatol.* 1982. 79:87s-89s.
- Lim HW. Mechanisms of phototoxicity in porphyria cutanea tarda and erythropoietic protoporphyria. *Immunol Ser.* 1989a. 46:671-685.
- Lim HW, Gigli I. The role of complement in phototoxic reactions. *Springer Semin Immunopathol.* 1981a. 4:209-219.
- Lim HW, Gigli I. Role of complement in Porphyrin-induced photosensitivity. *J Invest Dermatol.* 1981b. 76:4-9.
- Lim HW, Gigli I, Wasserman SI. Differential effects of Protoporphyrin and Uroporphyrin on murine mast cells. *J Invest Dermatol.* 1987. 88:281-286.
- Lim HW, Perez D, Goldstein IM, Gigli I. Complement-derived chemotactic activity is generated in human serum containing uroporphyrin after irradiation with 405nm light. *J Clin Invest.* 1981c. 67:1072-1077.
- Lim HW, Perez D, Poh-Fitzpatrick MB, Goldstein IM, Gigli I. Generation of chemotactic activity in serum from patients with Erythropoietic protoporphyria and Porphyria cutanea tarda. *N Engl J Med.* 1981d. 304:212-216.
- Lim HW, Poh-Fitzpatrick MB, Gigli I. Activation of the Complement System in Patients with Porphyrias after irradiation in vivo. *J Clin Invest.* 1984. 74:1961-1965.
- Lim HW. Pathophysiology of Cutaneous Lesions in Porphyria. *Sem Hematol.* 1989. 26:114-119.

- Lin JD, Phelps RG, Gordon ML, Hilfer JB, Wolfe DE, Ventakateshan VS, Fleischmajer R. Pathologic manifestations of the eosinophilia-myalgia syndrome: analysis of 11 cases. *Hum Pathol.* 1992. 23:429-437.
- Lovell CR, Nicholls AC, Duance VC, Bailey AJ. Characterization of dermal collagen in systemic sclerosis. *Br J Dermatol.* 1979. 100:359-369.
- Lucky AW, Mahoney MJ, Barnett RJ, Rosenberg LE. Electron microscopy of human skin fibroblasts in situ during growth in culture. *Exptl Cell Res.* 1975. 92:383-393.
- Magnin PH, Batlle AMC, Wider de Xifra EA, Lenczner JM, Stella AM. Estudio clínico y bioquímico comparativo entre porfiria cutánea tarda no esclerodérmica y esclerodérmica. *Rev Arg Derm.* 1982. 63:177-187.
- Malina L, Chlumsky J. The problem of possible etiological factors in the origin and development of PCT. En *Diagnosis and Therapy of Porphyrrias and Lead Intoxication*. Manfred Doss (ed). Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, New-York, 1978, pp117-120.
- Malkinson FD, Spira A, Woodbury L. Localized scleroderma (Band-like scleroderma and morphea) and PCT. *Arch Dermatol.* 1965. 92:592-594.
- Mallolas J, Soriano E. Resurrección de la tuberculosis. *Med Clin (Barc).* 1988. 91: 142-144.
- Marshall JS, Ford GP, Bell EB. Formalin sensitivity and differential staining of mast cells in human dermis. *Br J Dematol.* 1987.117:29-36.
- Mascaró JM: Las porfirias. *Med Clin (Barc).* 1983. 80:839-840.
- Mascaró JM, Lecha M, Herrero C, Muniesa AM. New aspects of Porphyrrias. *Curr Probl Derm.* 1985. 13:11-32.
- Mascaró JM, Lecha M, Herrero C, Muniesa AM^a, Smith SG. Common and uncommon dermatological manifestations of Porphyrrias. Symposium of Porphyrrias. XVI Congressus Internationalis Dermatologiae. Tokyo, 1982. 13-28.
- Mascaró J, Lecha M, Herrero C, Muniesa AM. Porphyrrias. Actualización sobre algunos aspectos puntuales. XI Congreso Hispano-Portugués. XVI Congreso Español Dermatología. Palma De Mallorca. 1986: 23-40.
- Maynard B, Peters MS. Histologic and immunofluorescence study of cutaneous porphyrias. *J Cutan Pathol.* 1992. 19:40-47.

Meigel WN, Gay S, Weber L. Dermal Architecture and Collagen type distribution. Arch Derm Res. 1977. 259: 1-10.

Menon IA, Becker MA, Persad SD, Haberman HF. Quantitation of hydrogen peroxide formed during UV-visible irradiation of protoporphyrin, coproporphyrin and uroporphyrin. Clin Chim Acta. 1990. 186:375-381.

Meurer M, Schulte C, Weiler A, Goerz G. Photodynamic action of uroporphyrin on the complement system in Porphyria Cutanea Tarda. Arch Dermatol Res. 1985. 277: 293-298.

Meyer UA, Schmid R. The Porphyrrias. The metabolic basis of inherited disease. 4^a ed. JB Standbury (ed). Mc Graw-Hill Book Company NY 1978. pp1166-1220.

Mikhail GR, Miller-Milinska A. Mast cells population in human skin. J Invest Dermatol. 1964. 43:249-254.

Montagna W, Carlisle K. Structural changes in aging human skin. J Invest Dermatol. 1979. 73:47-53.

Montagna W, Carlisle K. Structural changes in ageing skin. Br J Dermatol. 1990. 122. 35 suppl:61-70.

Montagna W, Kirchner S, Carlisle K. Histology of sun-damaged human skin. J Am Acad Dermatol. 1989. 21:907-918.

Muhlbauer JE, Pathak MA. Porphyria cutanea tarda. Int J Dermatol. 1979. 18:767-780.

Nishioka K, Kobayashi Y, Katayama I, Takijiri C. Mast cell numbers in diffuse scleroderma. Arch Dermatol. 1987. 123:205-208.

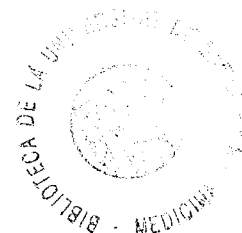
Nonaka S, Nishimoto K, Hirowatari T, Honda T, Nogita M. Electron microscopic study of porphyrias. J Dermatol (Tokyo). 1975. 2:87-92.

Nunzi E, Parodi A, Rebora A. Immunofluorescence findings in haematorporphyrin-induced keloid. Br J Dermatol. 1983. 108: 263-266.

Oikarinen A, Kallioien M. A biochemical and immunohistochemical study of collagen in sun-exposed and protected skin. Photodermatol. 1989. 6: 24-31.

Oikarinen A. The aging of skin: chronoaging versus photoaging. Photodermatol Photoimmunol Photomed. 1990. 7:3-4.

Owens GR, Medsger TA. Systemic sclerosis secondary to occupational exposure. Am J Med. 1988. 85:114-116.



Parra CA, Pizzi de Parra N. Diameter of the collagen fibrils in the sclerodermatous skin of porphyria cutanea tarda. *Br J Derm.* 1979. 9:573-578.

Perlish JS, Lemlich G, Fleischmajer R. Identification of collagen fibrils in scleroderma skin. *J Invest Dermatol.* 1988. 90:48-54.

Perrot H, Schmitt D, Thivolet J, Leung J, Germain D. Etude ultrastructurale de la bulle dans les porphyries cutanées hépatiques. *Bull Soc Fr Derm et Syph.* 1972. 79:12-18.

Peterka ES, Fusaro RM, Goltz RW. Erythropoietic Protoporphyrin. *Arch Dermatol.* 1965. 92:357-361.

Pigatto P, Altomare G, Polengui MM, Caccialanza M, Brambrilla L, Finzi A. Role of the polymorphonuclear neutrophils in the phototoxic reaction in porphyria cutanea tarda. *Photodermatol.* 1985. 2:372-376.

Pigatto PD, Polenghi MM, Altomare GF, Giacchetti A, Cirillo R, Finzi AF. Complement cleavage products in the phototoxic reaction of porphyria cutanea tarda. *Br J Dermatol.* 1986. 114:567-573.

Piñol Aguadé J, Mascaró JM, Galy-Mascaró C, Capdevila JM. Sur quelques manifestations cutanées et oculaires peu connues des porphyries (Les lymphangiectasies papuleuses centro-faciales de la porphyrie). *Ann Derm Syph. Paris.* 1969. 96:265-270.

Piñol J, Mascaró JM, Galy-Mascaró C. La "alopecia porfirica". *Med Cut.* 1971. 4:235-240.

Plastow SR, Lovell CR, Young AR. UVB-induced collagen changes in the skin of the hairless albino mouse. *J Invest Dermatol.* 1987. 88:145-148.

Poh-Fitzpatrick MB. Pathogenesis and treatment of photocutaneous manifestations of the Porphyrias. *Semin Liver Dis.* 1982. 2:164-176.

Poh-Fitzpatrick MB. Molecular and cellular mechanism of porphyrin photosensitization. *Photodermatol.* 1986a. 3:148-157.

Potter B, Handler R, Fagelson H. Porphyria with sclerodemoid changes. *Arch Dermatol.* 1964. 90:121-123.

Ramsay CA, Magnus IA, Turnbull A, Baker H. The treatment of Porphyria Cutanea Tarda by venesection. *Q J Med.* 1974. 166:1-24.

Rodman GP, Benedek TG, Medsger TA jr i Cammarata RJ. The association of progressive systemic sclerosis (scleroderma) with coalminers' pneumoconiosis and other forms of silicosis. *Ann Intern Med.* 1967. 66:323-334.

- Rothe MJ, Kerdel FA. The mast cell in fibrosis. *Int J Dermatol.* 1991. 30: 13-30.
- Rothe MJ, Nowak M, Kerdel FA. The mast cell in health and disease. *J Am Acad Dermatol.* 1990. 23:615-624.
- Ruoss SJ, Hartmann T, Caughey GH. Mast cell tryptase is a mitogen for cultured fibroblasts. *J Clin Invest.* 1991. 88:493-499.
- Ryan EA, Madill GT. Electron microscopy of the skin in erythropoietic protoporphyria. *Br J Derm.* 1968. 80:561-570.
- Sahn EE, Garen PD, Silver RM, Maize JC. Scleroderma following augmentation mammoplasty. *Arch Dermatol.* 1990. 126:1198-1202.
- Salgado V, Villar, Molina P, Rodríguez T, García-Donas MA, Carneado J. Porfíria hepatocutánea tarda. Manifestaciones clínicas, biológicas e histológicas en una serie de 32 pacientes. *Med Clin (Barc).* 1983. 80:527-531.
- Sams WW. Sun-induced aging. *Dermatologic Clinics.* 1986. 4:509-516.
- Sandberg S, Glette J, Hope AG, Solberg CA, Romslo I. Porphyrin-induced photodamage to isolate neutrophils. *Photochem Photobiol.* 1981c. 34: 471-475.
- Sandberg S, Romslo I. Phototoxicity of protoporphyrin as related to its subcellular localization in mice livers after short-term feeding with griseofulvin. *Biochem J.* 1981a. 198:67-74.
- Sandberg S, Romslo I. Porphyrin-induced photodamage at the cellular and the subcellular level as related to the solubility of the porphyrin. *Clin Chim Acta.* 1981b. 109:193-201.
- Sandberg S, Romslo I, Hovding G, Bjorndal T. Porphyrin-induced photodamage as related to the subcellular localization of the porphyrins. *Acta Derm Venereol (Stockh).* 1982. 100 (suppl):75-80.
- Schnait FG, Wolff K, Konrad K. Erythropoietic protoporphyria-submicroscopic events during the acute photosensitivity flare. *Br J Dermatol.* 1975. 92:545-557.
- Scholnick P, Brooks N. Porphyria cutanea tarda with sclerodermoid changes. *Arch Dermatol.* 1977. 113:511.
- Schwartz E. Connective tissue alterations in the skin of ultraviolet irradiated hairless mouse. *J Invest Dermatol.* 1988. 91:158-161.
- Schwartz E, Perlsh JS, Cruickshank FA, Timpl R, Fleischmajer R. Ultraviolet radiation-induced changes in collagen in hairless mouse skin. *J Invest Dermatol.* 1988. 90: 607.

Seibold JR, Giorno RC, Claman HN. Dermal mast cell degranulation in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1990. 33:1702-1709.

Seibold JR. Digital sclerosis in children with insulino-dependent diabetes mellitus. *Arthritis Rheum.* 1982. 25:1357-1361.

Sekula SA, Tschen JA, Rosen T. The Porphyrrias. *Am Fam Physicians.* 1986. 33:219-232.

Shuster S, Black MM, McVitie E. The influence of age and sex on skin thickness, skin collagen and density. *Br J Dermatol.* 1975. 93:639-643.

Simon N, Siklósi CS, Kószó F. The role of damages in cellular membrane structures in the development of porphyria cutanea tarda. *En Porphyrins in Human Diseases. First Int Meeting. Freiburg/Br.* 1975. pp 432-437.

Simon N, Berkó GY, Schneider I. Hepato-erythropoietic porphyria presenting as scleroderma and acrosclerosis in a sibling pair. *Br J Dermatol.* 1977. 96:663-668.

Simon N, Korom I, Szekeres L, Morvay M, Kószó F. Porphyria sclerodermiformis. *Z Hautkr.* 1986. 61:1607-1621.

Slutsker L, Hoesly FC, Miller L, Williams P, Watson JC, Fleming DW. Eosinophilia-Myalgia syndrome associated with exposure to triptophan from a single manufacturer. *JAMA.* 1990. 264:213-217.

Smith L. Histopathologic characteristics and ultrastructure of aging skin. *Cutis.* 1989. 43:414-424.

Sober AJ, Grove AS, Muhlbauer JE. Cicatricial ectropion and lacrimal obstruction associated with sclerodermoid variant of porphyria cutanea tarda. *Am J Ophthalmol.* 1980. 91:396-400.

Spiera H. Scleroderma after silicone augmentation mammoplasty. *JAMA.* 1988. 260:236-238.

Subba Bao PU, Friedman MM, Atkins FM, ?????. Phagocytosis of mast cell granules by cultured fibroblasts. *J Immunol.* 1983. 130:341.

Takeda K, Hatamochi A, Ueki H. Increased number mast cells accompany enhanced collagen synthesis in linear localized scleroderma. *Arch Dermatol Res.* 1989. 281:288-190.

Thompson HL, Burbelo PD, Gabriel G, Yamada Y, Metcalfe DD. Murine mast cells synthesize basement membrane components. A potential role in early fibrosis. *J Clin Invest.* 1991. 87:619-623.

Tio Ting Ho, Cormane RH, Szabo E. Localization of serum substances in the skin of patients with Porphyria Cutanea Tarda (PCT). S A Medical Journal. Sp. iss. 1971. 45:57-58.

Topi GC, Gandolfo L D'A. Clinical observation, diagnostics and therapy for Symptomatic and Hereditary Porphyria Cutanea Tarda. En Diagnosis and Therapy of Porphyrias and Lead Intoxication. Manfred Doss (ed). Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, New-York, 1978, pp107-110.

Torinuki W, Kudoh K, Togami H. Increased mast cell numbers in the sclerotic skin of Porphyria cutanea tarda. Dermatologica. 1989. 178:75-78.

Tosti A, Villardita S. Sull'istopatologia della porfiria cutanea tarda. Boll Ist Dermatol S Gall. 1971. 7:49-66.

Toxic Epidemic Syndrome Study Group. Toxic epidemic syndrome, Spain, 1981. Lancet. 1982. 2:697-702.

Uitto J, Bauer EA, Eisen AZ. Scleroderma. Increased biosynthesis of triple-helical type I and type II procollagens associated with unaltered expression of collagenase by skin fibroblasts in culture. J Clin Invest. 1979. 64:921-930.

Uitto J, Fazio MJ, Olsen DR. Molecular mechanisms of cutaneous aging. Age-associated connective tissue alterations in the dermis. J Am Acad Dermatol. 1989. 2:614-622.

Vargas J, Jimenez A. Mamoplastia de aumento y esclerodermia. ¿Hay alguna asociación?. Arch Dermatol (Ed. Esp). 1991.2:38-40.

Varigos G, Schiltz JR, Bickers DR. Uroporphyrin I stimulation of collagen biosynthesis in human skin fibroblasts. J Clin Invest. 1982. 69:129-135.

Wakulchik SD, Schiltz JR, Bickers DR. Photolysis of protoporphyrin-treated human fibroblasts in vitro: studies on the mechanism. J Lab Clin Med. 1980. 96:158-167.

Walder BK. Do solvents cause scleroderma? Int J Dermatol. 1983. 22.:157-158.

Wilson PR. Porphyria cutanea tarda with cutaneous "scleroderma" and calcification. Australas J Dermatol. 1989. 20:93-96.

Winkelmann RK. Localized scleroderma, including eosinophilic fasciitis.

Wolff K, Hönigsmann H, Rauschmeier W, Schuler G, Pechlaner R. Microscopic and fine structural aspects of porphyrias. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1982. suppl. 100:17-28.

Yoffe JR, Taylor DJ, Woolley DE. Mast cell products stimulate collagenase and prostaglandin E production by cultures of adherent rheumatoid synovial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1984. 122:270-276.

Zheng P i Kligman LH. UVA-Induced ultrastructural changes in hairless mouse skin: A comparison to UVB-induced damage. *J Invest Dermatol.* 1993. 100::194-199.