

Protección solar con fotoliasas: resumen de la evidencia y análisis crítico.

Lucas Navajas-Galimany¹, Pablo Uribe².

¹Residente de Dermatología. Departamento de Dermatología. Pontificia Universidad Católica de Chile; ²Profesor Asistente. Departamento de Dermatología. Pontificia Universidad Católica de Chile.

El fotosenescimiento y la fotocarcinogénesis son temas de relevancia en dermatología. La fotoprotección es una medida de prevención primaria dirigida para evitar el daño inducido por la radiación ultravioleta. Sin embargo, su uso es también de relevancia como prevención secundaria en casos de daño solar ya establecido, como son las queratosis actínicas, lentigos solares, elastosis solar, cáncer de piel y otros¹.

La radiación solar está compuesta por luz visible, radiación infrarroja y ultravioleta. La radiación ultravioleta comprende los espectros UVA, UVB y UVC, constituyendo aproximadamente el 9% del total de radiación solar. La radiación del tipo UVC es captada por la capa de ozono, por lo que en la corteza terrestre un 95% corresponde a UVA y sólo un 5% a UVB^{2,3}. La radiación UVB incluye el espectro de longitudes de onda entre 280 – 320 nm, con mayor contenido energético y mayor potencial eritemogénico y carcinógeno que la UVA. La radiación del tipo UVA se caracteriza por tener longitudes de onda mayores, entre 320 – 400 nm, por lo que penetra de forma más profunda en la dermis, pero concentrando una cantidad de energía menor⁴. Actualmente se sabe que tanto UVB como UVA pueden aumentar el riesgo de carcinogénesis mediante dos procesos fundamentales: en primer lugar, el daño directo o indirecto sobre el ADN y estructuras celulares y, en segundo lugar, fenómenos de inmunosupresión a nivel cutáneo⁵⁻⁷.

El daño directo al ADN se debe principalmente a su acción cromófora, absorbiendo la radiación ultravioleta, en especial UVB y UVC^{4,8}. Los sitios más afectados, denominados también "hot spots", son los sitios donde encontramos dos bases nitrogenadas pirimidínicas adyacentes. La absorción de fotones por parte del ADN genera un estado de hiperexcitabilidad, lo que puede resultar en la formación de un enlace doble entre dos pirimidinas, en una estructura denominada dímero de pirimidina ciclobutano (CPD), lo que ocurre especialmente con UVB y en menor grado con UVA^{9,13,14}. Otra alteración es la formación de un enlace covalente entre el carbono en posición 6 de una pirimidina con uno en posición 4 de otra pirimidina, denominado fotoproducto⁶⁻⁴. La

8-hidroxi-guanosina es también un fotoproducto con modificación del ADN como resultado de la actividad de especies reactivas de oxígeno en condiciones de exposición UVA y/o UVB^{10,11}. Todas estas alteraciones producen una distorsión de la estructura normal de doble hélice del ADN, con la potencialidad de provocar mutaciones posteriores y carcinogénesis¹². La cantidad de CPD alcanza un *plateau* entre 12 a 24 horas post irradiación¹⁵ y es dependiente de la intensidad de energía¹⁶

UVB también induce la expresión de P53 (proteína guardiana del genoma) y de mediadores que son responsables de la fototoxicidad e inmunosupresión¹⁷. Asimismo, la radiación UVB puede provocar apoptosis de queratinocitos y linfocitos¹⁸ y la ruptura precoz de hebras de ADN en células de estratos basales de la epidermis¹⁹.

Las fotoliasas corresponden a enzimas de tamaños entre 45-66 kDa que contienen entre 420-616 residuos aminoacídicos²⁰. Hasta la fecha, existen 2 clases identificadas: las de clase 1 son ampliamente encontradas en eubacterias, hongos y halobacterias²¹. Las de clase 2 están presentes en eucariotes como peces y marsupiales, hongos, algunas eubacterias²² y múltiples patógenos como virus pox²³ y parásitos²⁴. Se postula que los mamíferos placentarios sufrieron una pérdida de fotoliasas a lo largo de la evolución²⁵. En los mamíferos, incluyendo a los seres humanos, los efectos deletéreos de las lesiones fotoinducidas son corregidas sólo por mecanismos de reparación por escisión de nucleótidos (NER, por sus siglas en inglés), sin contar con la participación de fotoliasas²⁶. En cultivos de fibroblastos sometidos a radiación UV se ha demostrado que este proceso de reparación es más efectivo y más rápido en eliminar fotoproductos 6,4 que los CPD²⁷. La capacidad reparadora de las fotoliasas está dirigida específicamente en la eliminación de dímeros de pirimidina ciclobutano favorecida por la radiación solar durante un proceso denominado fotorreactivación, convirtiendo los dímeros de pirimidinas nuevamente a su forma monomérica²⁶.

A lo largo de los últimos años se ha planteado que la incorporación de fotoliasas en fotoprotectores, para uso tópico, tendría un efecto protector ante la aparición de nuevas lesiones e incluso se le ha

Correspondencia: Pablo Uribe G.

Correo electrónico: puribeg@med.puc.cl

adjudicado la capacidad de revertir lesiones ya establecidas en pacientes con evidencia de fotodaño extenso. En vista de estos planteamientos, realizamos una búsqueda amplia de la evidencia disponible al respecto, utilizando las bases de datos Pubmed y Epistemonikos. La Tabla 1 resume los estudios encontrados y sus características fundamentales.

El estudio *in vitro* de la naturaleza de las fotoliasas y sus mecanismos de reparación ha sido reportado en múltiples publicaciones. A nuestro saber, el primer reporte de uso tópico en humanos fue realizado por Stege y colaboradores²⁸. En dicho estudio se aplicaron preparados de fotoliasas de *Anacystis nidulans* encapsulados en liposomas con posterior fotorreactivación de la enzima mediante UVA (340-400 nm), mostrando efectividad en la reparación de daño inducido por radiación UVB en piel humana. Se reportó una reducción de 40%-45% del número de dímeros de pirimidina ciclobutano en la epidermis, asociado a un restablecimiento de la capacidad de queratinocitos de producir ICAM-1, sugiriendo que el efecto inmunosupresor de la radiación UV se asocia a la formación de dímeros en la piel irradiada.

El año 2012, una publicación de Berardesca y colaboradores¹, reportó el efecto beneficioso del uso de fotoprotectores con fotoliasas en relación a la disminución de la formación de dímeros de pirimidina ciclobutano y las tasas de muerte celular por apoptosis. En dicho trabajo, 10 voluntarios de origen caucásico y de piel clara (Fototipo 2 de Fitzpatrick) fueron expuestos a radiación UV por 4 días consecutivos. De este estudio se concluyó que el uso de fotoprotector, por sí solo, logró una disminución de 62% en relación al control positivo (radiación UV sin protección ni otros productos), mientras que al agregar fotoliasas esa cifra aumentó a un 93%. La tasa de apoptosis fue medida mediante detección de mono y oligonucleosomas en las fracciones citoplasmáticas de lisados celulares mediante técnica de ELISA a partir de las biopsias cutáneas. Las tasas de apoptosis fueron hasta 8,1 veces mayores en las zonas irradiadas, pero éstas lograron ser reducidas en un 82% al agregar fotoliasas.

Un estudio piloto no controlado realizado el año 2013²⁹, evaluó el efecto de Eryfotona® AK-NMSC (Eryf-AK) (fotoprotector que incorpora fotoliasas en liposomas) en el tratamiento de campo de cancerización. Dicho estudio incluyó pacientes con fotodaño establecido y queratosis actínicas diagnosticadas por microscopía confocal y confirmadas por histología. Se enrolaron 13 pacientes de los cuales 6 se perdieron en el seguimiento. Finalmente 7 casos pudieron ser analizados, destacando que 3 de ellos presentaron una mejoría histológica completa, 1 con mejoría sobre el 80% y 3 de ellos con mejoría parcial. Además, se distinguió un aumento de la expresión génica de CPI17, gen involucrado en la recuperación del fenotipo normal de los queratinocitos. Otro estudio de

similares características fue publicado el mismo año, en base a una serie clínica de 6 pacientes con fotodaño extenso³⁰. En dicho trabajo también se evaluó la efectividad de Eryfotona® AK-NMSC, mostrando mejoría clínica superior al 50% en todos los pacientes en base a análisis fotográfico pre y post-tratamiento por 1 a 3 meses, estudio realizado sin grupo control. Este producto también se ha estudiado en un pequeño grupo de pacientes con xeroderma pigmentoso, comparando con estadísticas previas de cada paciente, mostrando un efecto protector de cancer cutáneo³¹. Dadas las características de dichos reportes (series de casos) no se puede afirmar que los cambios clínicos observados se deban al uso de fotoliasas, pudiendo corresponder a la evolución natural de las lesiones.

En un trabajo presentado el año 2014 en la Reunión Anual de la Academia Americana de Dermatología³², se expusieron los cambios clínicos, dermatoscópicos, de microscopía confocal, histopatología e inmunohistoquímica en 20 pacientes que usaron Eryfotona® AK-NMSC por 2 meses. En dicho estudio destacaba la reducción del eritema y la descamación, junto con un menor grosor del estrato córneo y menor grado de atipia de queratinocitos. Además, en la inmunohistoquímica se encontró una reducción significativa de dímeros de pirimidina. Los resultados en torno a tolerabilidad y aceptación cosmética de la aplicación tópica de dicho producto también han sido presentados en congresos³³. Recientemente, en la Reunión Anual de la Academia Europea de Dermatología y Venereología (Octubre 2015, Copenhague), fueron presentadas nuevas investigaciones en esta área. Estudios pilotos aleatorizados demostraron efectos clínicos y dermatoscópicos beneficiosos significativos con el uso de fotoprotección con fotoliasas³⁴⁻³⁶. Uno de ellos³⁴ reclutó pacientes con fotodaño extenso que fueron sometidos a terapia fotodinámica, y luego se evaluó la evolución clínica comparativa entre el uso de fotoprotectores con o sin fotoliasas. Ningún paciente con fotoliasas requirió una nueva sesión de terapia fotodinámica, en contraste con 10 pacientes (66%) en el grupo sin fotoliasas. Otro trabajo presentado³⁶ fue un piloto aleatorizado doble ciego con el uso de fotoliasas tópicas (aún no publicado). En dicho trabajo se enrolaron 50 pacientes portadores de queratosis actínicas: 24 de ellos fueron tratados con Eryfotona® AK-NMSC y 26 con protección solar estándar, ambos aplicados 2 veces al día. Completaron el estudio 36 pacientes (17 y 19 respectivamente). Tras 6 meses de seguimiento, se observó una reducción significativa en el número de queratosis actínicas en relación con el basal en ambos grupos. Sólo se presentaron los resultados del subgrupo con menos de 10 lesiones iniciales (20 pacientes). Tras 6 meses de seguimiento un 14% presentó nuevas lesiones con el uso de Eryfotona® AK-NMSC versus un 54% que desarrolló nuevas lesiones en el grupo con protección estándar.

Estudio	Diseño del estudio	Población	Esquema de tratamiento	Exposición radiación	Resultados (con uso de fotoliasas)
Stege y cols. (2000)	Ensayo Clínico Controlado	19 adultos jóvenes sanos Fototipos II - III	Loción de liposomas con fotoliasas inmediatamente tras irradiación con UVB por 60 min. No se usaron fotoprotectores. Se comparó con controles de piel de los mismos pacientes sin uso de fotoliasas.	UVB (280–320 nm) Dosis: 1 dosis de eritema mínima (DEM) 1 Aplicación	Disminución de 40-45% de los dímeros de pirimidina ciclobutano con respecto a piel irradiada sin uso de fotoliasas. Reestablecimiento de ICAM-1 en queratinocitos.
Berardesca y cols. (2012)	Ensayo Clínico Controlado	10 adultos jóvenes sanos (5 mujeres – 5 hombres) Rango de edades: 25-36 años Fototipo II	Aplicación de diversos productos (vehículo, fotoprotector, fotoprotector + fotoliasas) en distintos sitios 30 minutos previos a exposición.	Simulador solar (290-400 nm) Dosis: 3 DEM en 4 días consecutivos	Disminución de 93% de los dímeros de pirimidina ciclobutano con respecto a piel irradiada no tratada. (62% con fotoprotector solo) Prevención de apoptosis en 82%. (40% con fotoprotector solo)
Puig-Butillé y cols. (2013)	Ensayo Clínico No Controlado	7 adultos con fotodaño establecido (100% queratosis actínicas) Rango de edades: 28-92 años	Aplicación de Eryfotona® AK-NMSC 2 veces/día en áreas afectadas en las mañanas y 4-6 horas después.	No	3 pacientes: Mejoría histológica completa 1 paciente: Mejoría sobre el 80% del inicial 3 pacientes: Mejoría parcial
Milani y cols.* (2013)	Ensayo Clínico No Controlado	46 pacientes con fotodaño (queratosis actínicas y/o cáncer de piel no melanoma) 72% hombres Promedio de edad: 68 años Fototipos II-III	Aplicación de fotoprotector con fotoliasas (ISDIN) por 2 meses.	No	Buena aceptabilidad cosmética y tolerabilidad del producto tópico en los sitios aplicados. Mejoría clínica de lesiones en 61% de los pacientes. (No específica con mayor detalle)
Puviani y cols. (2013)	Ensayo Clínico No Controlado	6 adultos con fotodaño establecido (100% queratosis actínicas) Rango de edades: 65-74 años	Aplicación de Eryfotona® AK-NMSC 2 veces/día en áreas afectadas en las mañanas y 4-6 horas después por 1 - 3 meses.	No	Se tomaron registros fotográficos comparativos: 3 pacientes: mejoría 50-75% respecto al basal 3 pacientes: mejoría mayor al 75% respecto al basal
Emanuele y cols. (2013)	Ensayo Clínico Controlado	12 adultos jóvenes sanos (6 mujeres – 6 hombres) Rango de edades: 26-31 años Fototipos I-II	Aplicación de fotoprotector + fotoliasas 30 minutos previos a exposición. Además, preparación de endonucleasa (M luteus) inmediatamente post-irradiación.	Simulador solar (290-400 nm) Dosis: 3 DEM 4 Días consecutivos	Reducción significativa en longitud de telómeros. Reducción en expresión de c-FOS.
Emanuele y cols. (2014)	Ensayo Clínico Controlado	20 adultos sanos (10 mujeres – 10 hombres) Promedio de edad: 34 años Fototipos I-II	Aplicación de diversos productos (vehículo, fotoprotector, complejo antioxidante, fotoliasas) Cada uno por sí sólo y en asociación, en distintos sitios 30 minutos previos a exposición.	Simulador solar (290-400 nm) Dosis: 6 DEM por 8 días consecutivos	Reducción significativa en cantidad de dímeros de pirimidina ciclobutano con respecto a piel irradiada sin uso de fotoliasas. Disminución de 8 oxo-guanina.
Giustini y cols.* (2014)	Serie retrospectiva de casos	8 pacientes con Xeroderma pigmentoso (3 mujeres – 5 hombres) Promedio de edad: 55 años	Tratamiento al menos por 12 meses con Eryfotona® AK-NMSC de forma diaria, sin co-intervenciones.	No	Reducción en la aparición de queratosis actínicas, cánceres basocelulares y espinocelulares durante el año de tratamiento, comparados con año previo (sin tratamiento).

*: Trabajo presentado en congreso científico.

Estudio	Diseño del estudio	Población	Esquema de tratamiento	Exposición radiación	Resultados (con uso de fotoliasas)
Puig y cols.* (2014)	Ensayo Clínico No Controlado (Piloto)	20 pacientes (5 mujeres – 15 hombres) Promedio de edad: 75 años Áreas con fotodaño y queratosis actínicas > 3.6 x 3.6 cm.	Aplicación de Eryfotona® AK-NMSC 2 veces/día en áreas afectadas por 2 meses. Se realizó seguimiento fotográfico, dermatoscópico, de microscopía confocal, histología e inmunohistoquímica al inicio y final del tratamiento.	No	Clinica - Dermatoscopia: Reducción significativa del eritema y descamación. Microscopía confocal: Reducción de descamación, corneocitos desprendidos, células nucleadas largas en epidermis superficial y patrón en panal de abeja atípico. Histología: Reducción del grosor del estrato córneo y del grado de atipia de queratinocitos. Inmunohistoquímica: Reducción significativa de dímeros de pirimidina, p21, PCNA. No significativo para Ki67.
Puviani y cols. (2015)	Ensayo Clínico No Controlado	11 adultos con fotodaño extenso. (3 mujeres – 8 hombres) Rango de edades: 50-75 años Promedio de edad: 68 años Fototipo II	Aplicación de Eryfotona® AK-NMSC 2 veces/día en áreas afectadas por 1 - 3 meses.	No	Reducción del área con queratosis actínicas. (Medido por tecnología fotográfica por dispositivo de escaneo de piel, Antera 3D®)
Lacarrubba y cols.* (2015)	Ensayo Clínico Aleatorizado (Piloto)	12 adultos con queratosis actínicas (5 mujeres – 7 hombres) Promedio de edad: 64 años	Grupo 1 (6 pacientes): Aplicación de Eryfotona® AK-NMSC 2 veces/día en toda la cara por 6 meses. Grupo 2 (6 pacientes): Aplicación de fotoprotector FPS50 2 veces/día en toda la cara por 6 meses.	No	En cada paciente se identificó una lesión de queratosis actínica (no hipertrófica) objetivo, la cual se evaluó al inicio y a los 6 meses. Tras 6 meses de tratamiento: En el grupo con fotoliasas se encontró una mejoría clínica y dermatoscópica significativa en 4 de 6 pacientes (68%). El grupo sin fotoliasas, en contraste, tuvo una mejoría de 1 de 6 pacientes (17%).
Eibenschutz y cols.* (2015)	Estudio Clínico Aleatorizado Ciego	30 adultos con fotodaño extenso (En promedio 7.5 por paciente) (7 mujeres – 23 hombres) Promedio de edad: 68 años	A todos los pacientes se les realizó terapia fotodinámica al inicio del estudio, luego fueron aleatorizados. Grupo 1 (15 pacientes): Aplicación de Eryfotona® AK-NMSC por 9 meses Grupo 2 (15 pacientes): Aplicación de fotoprotector sin fotoliasas por 9 meses.	No	Tras 9 meses de tratamiento: Número de queratosis actínicas promedio en grupo sin fotoliasas: 3.6 (Desviación estándar: 3.8) Número de queratosis actínicas promedio en grupo con fotoliasas: 1.0 (Desviación estándar: 1.1) Ningún paciente con fotoliasas requirió una nueva sesión de terapia fotodinámica, versus 10 pacientes (66%) en grupo sin fotoliasas.
Moscarella y cols.* (2015)	Estudio Clínico Aleatorizado Ciego (Piloto)	50 pacientes con fotodaño (queratosis actínicas en últimos 7 años, en promedio más de 10 lesiones) 84% Hombres Promedio de edad: 73.4 años Fototipos I-II	Grupo 1 (24 pacientes, finalizaron 17): Aplicación de Eryfotona® AK-NMSC por 6 meses. Grupo 2 (26 pacientes, finalizaron 19): Aplicación de fotoprotector sin fotoliasas por 9 meses.	No	Tras 6 meses de tratamiento: Reducción significativa de queratosis actínicas en ambos grupos en comparación con el basal. En subgrupo de pacientes con enfermedad "leve" (menor o igual a 10 lesiones al inicio del estudio), hubo una reducción significativa en el desarrollo de nuevas lesiones (14% pacientes con fotoliasas versus un 54% con uso de fotoprotector sin fotoliasas).

*: Trabajo presentado en congreso científico.

Tabla 1. Resumen de estudios publicados en torno al uso de fotoliasas tópicas en seres humanos.

Otros hallazgos en relación al uso de fotoliasas tópicas en humanos han demostrado que puede impedir el acortamiento de telómeros en células cutáneas y disminuir la expresión del proto-oncogen c-FOS, que actúa como factor de transcripción, sobreexpresado en diversas formas de cáncer cutáneo³⁷. El uso de fotoliasas no ha sido sólo asociado a fotoprotectores, de hecho, un trabajo reciente investigó los efectos protectores de una mezcla de estos dos elementos más un complejo antioxidante³⁸. La mezcla de los 3 compuestos demostró tener una mayor efectividad que cada uno por sí solo y que la asociación en parejas entre ellos. Además, se detectó que disminuyó significativamente los niveles de 8 oxo-Guanina. (indicador de daño indirecto al ADN mediado por radicales de oxígeno)

Al considerar los hallazgos reportados en los distintos estudios hasta la fecha, podemos concluir que se han detectado múltiples efectos que parecieran ser beneficiosos, incluso con la potencialidad de revertir un daño actínico ya establecido. Además, su uso en concomitancia con fotoprotectores de alta calidad es sin duda un factor positivo. Sin embargo, proponemos que sería interesante interpretar estos datos con cautela y de acuerdo a un análisis crítico. A continuación exponemos algunas reflexiones al respecto:

1. Es sabido que la evolución natural de las queratosis actínicas puede tender a regresar espontáneamente, mantenerse sin cambios, proliferar, reaparecer o incluso desarrollar un carcinoma espinocelular en un porcentaje de ellas, por lo que no podemos atribuir el 100% de la efectividad a un producto tópico en la capacidad del mismo para resolver estas lesiones⁴⁰.

2. Si nos detenemos en el mecanismo de acción de las fotoliasas, podemos distinguir que su capacidad reparadora se basa en el reconocimiento de dímeros de pirimidina ciclobutano, inducidos por el daño solar. Su rol preventivo se basa en la oportunidad de corregir esa alteración estructural del ADN de forma precoz y aguda, antes de que esa porción de material genético sea replicada (y transmitida a otras células), determinando mutaciones del ADN. En casos de fotodaño establecido, esos dímeros fueron formados con mucha anterioridad al uso de fotoliasas y por ende ese material genómico ya sufrió mutaciones que no son reparables mediante esta enzima. Es por esto que es difícil de entender el potencial beneficio en el campo de cancerización o tratamiento de queratosis actínicas. Quizás, el efecto clínico potencialmente beneficioso pudiese tener relación con una reducción de inmunosupresión mediada por UV28 o la importancia potencial de los dímeros en la mantención de lesiones neoplásicas, pero esto aún debe ser comprobado desde el punto de vista básico y clínico.

3. En el proceso de carcinogénesis hay una serie de alteraciones y noxas que se acumulan en una determinada estirpe celular, las cuales pueden eventualmente dar origen al desarrollo de una

neoplasia⁴¹. Poco se ha discutido en torno al potencial rol pro-carcinogénico que podrían tener las fotoliasas al contribuir a la disminución de las tasas de apoptosis y al evitar el acortamiento telomérico. La apoptosis mediada por radiación UVB es actualmente considerada en estos casos como un mecanismo protector que previene la transformación maligna mediante la eliminación de células que portan una alta carga de daño inducido por radiación^{42,43}. El efecto probado de fotoliasas en aumentar las tasas de supervivencia celulares podría dar pie a que grupos celulares con daño genético perduren en el tiempo. En palabras más simples, puede permitir que una célula que acumuló un nivel de daño por efecto de la radiación deje de ir a apoptosis y, en su lugar, sobreviva con potencialidad de desarrollar una neoplasia en el futuro, aunque existe cierta evidencia clínica que no apoyaría esta hipótesis.

4. Pese a que siguen apareciendo nuevos estudios, la calidad de la evidencia disponible hasta la fecha es insuficiente. Se necesitan nuevos estudios controlados, doble ciego, aleatorizados, con mayores tamaños muestrales, que entreguen datos de alta calidad metodológica, donde se compruebe la efectividad propuesta en prevención de daño actínico, la mejoría de campo de cancerización y el efecto positivo sobre queratosis actínicas. Además, es importante considerar las consecuencias beneficiosas o deletéreas de esta terapia a mediano y largo plazo.

Referencias bibliográficas

1. Berardesca E, Bertona M, Altabas K, Altabas V, Emanuele E. Reduced ultraviolet-induced DNA damage and apoptosis in human skin with topical application of a photolyase-containing DNA repair enzyme cream: clues to skin cancer prevention. *Mol Med Rep.* 2012;5(2):570-4.
2. Kochevar I et al. Fundamentals of Cutaneous Photobiology and Photoimmunology. En: Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine 7th Ed, McGraw-Hill, 2008, p. 797-809.
3. Rüniger T. Ultraviolet Light. Ch 86. En: Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP, eds. *Dermatology* 3rd Ed. Elsevier Limited, 2012, p. 1455-1465.
4. Rüniger TM. How different wavelengths of the ultraviolet spectrum contribute to skin carcinogenesis: the role of cellular damage responses. *J Invest Dermatol.* 2007;127(9):2103-5.
5. Pfeifer GP, You YH, Basaratina A. Mutations induced by ultraviolet light. *Mutat Res.* 2005;571(1-2):19-31.
6. Murphy GM. Ultraviolet radiation and immunosuppression. *Br J Dermatol.* 2009;161 Suppl 3:90-5.
7. Elmetts CA, Cala CM, Xu H. Photoimmunology. *Dermatol Clin.* 2014;32(3):277-90.
8. Lautenschlager S, Wulf HC, Pittelkow MR. Photoprotection. *Lancet.* 2007;370(9586):528-37.
9. Cadet J, Mouret S, Ravanat JL, Douki T. Photo-Induced Damage to Cellular DNA: Direct and Photosensitized Reactions. *Photochem Photobiol.* 2012;88(5):1048-65.

10. Ahmed NU, Ueda M, Nikaido O, Osawa T, Ichihashi M. High levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine appear in normal human epidermis after a single dose of ultraviolet radiation. *Br J Dermatol*. 1999;140(2):226-31.
11. Budiyanoto A, Ueda M, Ueda T, Ichihashi M. Formation of cyclobutane pyrimidine dimers and 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine in mouse and organ-cultured human skin by irradiation with broadband or with narrowband UVB. *Photochem Photobiol*. 2002;76(4):397-400.
12. Brenner M, Hearing VJ. The protective role of melanin against UV damage in human skin. *Photochem Photobiol* 2008;84(3):539-49.
13. Mouret S, Baudouin C, Charveron M, Favier A, Cadet J, Douki T. Cyclobutane pyrimidine dimers are predominant DNA lesions in whole human skin exposed to UVA radiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(37):13765-70.
14. Runger TM, Kappes UP. Mechanisms of mutation formation with long-wave ultraviolet light (UVA). *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2008;24(1):2-10.
15. Sreevidya CS, Fukunaga A, Khaskhely NM, Masaki T, Ono R, Nishigori C, et al. Agents that reverse UV-Induced immune suppression and photocarcinogenesis affect DNA repair. *J Invest Dermatol*. 2010;130(5):1428-37.
16. Mouret S, Leccia MT, Bourrain JL, Douki T, Beani JC. Individual photosensitivity of human skin and UVA-induced pyrimidine dimers in DNA. *J Invest Dermatol*. 2011;131(7):1539-46.
17. Weichenthal M, Schwarz T. Phototherapy: how does UV work? *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2005;21(5):260-6.
18. Ozawa M, Ferenczi K, Kikuchi T, Cardinale I, Austin LM, Coven TR, et al. 312-nanometer ultraviolet B light (narrow-band UVB) induces apoptosis of T cells within psoriatic lesions. *J Exp Med*. 1999;189(4):711-8.
19. D. Lu YP, Lou YR, Yen P, Mitchell D, Huang MT, Conney AH. Time course for early adaptive responses to ultraviolet B light in the epidermis of SKH-1 mice. *Cancer Res*. 1999;59(18):4591-602.
20. Garinis GA, Jans J, van der Horst GT. Photolyases: capturing the light to battle skin cancer. *Future Oncol*. 2006;2(2):191-9.
21. McCready S, Marcello L. Repair of UV damage in *Halobacterium salinarum*. *Biochem. Soc. Trans*. 2003;31(Pt 3):694-698.
22. O'Connor KA, McBride MJ, West M, Yu H, Trinh L, Yuan K, et al. Photolyase of *Myxococcus xanthus*, a gram-negative eubacterium, is more similar to photolyases found in Archaea and higher eukaryotes than to photolyases of other eubacteria. *J. Biol. Chem*. 1996;271(11):6252-6259.
23. Bennett CJ, Webb M, Willer DO, Evans DH. Genetic and phylogenetic characterization of the type II cyclobutane pyrimidine dimer photolyases encoded by *Leporipoxviruses*. *Virology* 2003;315:10-19.
24. Slamovits CH, Keeling PJ. Class II photolyase in a microsporidian intracellular parasite. *J. Mol. Biol*. 2004;341:713-721.
25. Jans J, Schul W, Sert YG, Rijkse Y, Rebel H, Eker AP, et al. Powerful skin cancer protection by a CPD-photolyase transgene. *Curr Biol*. 2005;15(2):105-15.
26. Hoeijmakers JH. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* 2001;411:366-374.
27. Kobayashi N, Katsumi S, Imoto K, Nakagawa A, Miyagawa S, Furumura M, et al. Quantitation and visualization of ultraviolet-induced DNA damage using specific antibodies: application to pigment cell biology. *Pigment Cell Res*. 2001;14(2):94-102.
28. Stege H, Roza L, Vink AA, Grewe M, Ruzicka T, Grether-Beck S, et al. Enzyme plus light therapy to repair DNA damage in ultraviolet-B-irradiated human skin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97(4):1790-5.
29. Puig-Butillé JA, Malveyh J, Potrony M, Trullas C, Garcia-Garcia F, Dopazo J, et al. Role of CPI-17 in restoring skin homeostasis in cutaneous field of cancerization: effects of topical application of a film-forming medical device containing photolyase and UV filters. *Exp Dermatol*. 2013;22(7):494-6.
30. Puviani M, Barcella A, Milani M. Efficacy of a photolyase-based device in the treatment of cancerization field in patients with actinic keratosis and non-melanoma skin cancer. *G Ital Dermatol Venereol*. 2013;148(6):693-8.
31. Giustini S, Miraglia E, Berardesca E, Milani M, Calvieri S. Preventive Long-Term Effects of a Topical Film-Forming Medical Device with Ultra-High UV Protection Filters and DNA Repair Enzyme in Xeroderma Pigmentosum: A Retrospective Study of Eight Cases. *Case Rep Dermatol*. 2014;6(3):222-6.
32. Puig S, Alarcon I, Diaz, A, Trullas C, Malveyh J. Photolyase and UV filters fluid formulation in the treatment field cancerization of actinic keratosis: clinical, dermoscopy, confocal microscopy and histopathological improvements after 2 months of treatment. Trabajo presentado en: 72nd Annual Meeting of the American Academy of Dermatology; 2014 Mar 21-25; Denver, Colorado, USA.
33. Milani M, Barcella A, Fantini F, Puviani M, Picciotto F. Clinical experience with a fluid formulation of a film-forming medical device containing photolyase and UV filters in patients with actinic damage: A multicenter prospective evaluation. Trabajo presentado en: EADV 2013. 22nd European Academy of Dermatology & Venereology Congress; 2013 Oct 2 - 6; Istanbul, Turkey.
34. Eibenschutz L, Silipo V, Milani M, Catricalà C. A 9-month, randomised, assessor-blinded parallel-group study to evaluate clinical effects of a film-forming medical devices containing photolyase in the treatment of cancerization field in comparison with sunscreen in patients after successful PDT for Actinic Keratosis. Trabajo presentado en: EADV 2015. 24th European Academy of Dermatology & Venereology Congress; 2015 Oct 7 - 11; Copenhagen, Denmark.
35. Lacarrubba F, Verzi AE, Guzzardi L, Micali G. A Film-forming medical device containing photolyase and UV-filters in facial Actinic Keratosis: A randomised controlled pilot study with clinical and dermoscopy evaluation in comparison with 50+sunscreen. Trabajo presentado en: EADV 2015. 24th European Academy of Dermatology & Venereology Congress; 2015 Oct 7- 11; Copenhagen, Denmark.
36. Moscarella E, Argenziano E, Milani M, Aladren S, Sanz MT. A medical device containing photolyase: a new tool for the management of cancerization field in patients with actinic keratosis. Trabajo presentado en: EADV 2015. 24th European Academy of Dermatology & Venereology Congress; 2015 Oct 7- 11; Copenhagen, Denmark.
37. Emanuele E, Altabas V, Altabas K, Berardesca E. Topical application of preparations containing DNA repair enzymes prevents ultraviolet-induced telomere shortening and c-FOS proto-oncogene hyperexpression in human skin: an experimental pilot study. *J Drugs Dermatol*. 2013;12(9):1017-21.
38. Emanuele E, Spencer JM, Braun M. An experimental double-blind irradiation study of a novel topical product (TPF 50) compared to other topical products with DNA repair enzymes, antioxidants, and growth factors with sunscreens: implications for preventing skin aging and cancer. *J Drugs Dermatol*. 2014;13(3):309-14.
39. Puviani M, Milani M. A Pilot, Prospective, Open-Label Study on the Effects of a Topical Photorepair and Photoprotection Film-Forming Medical Device in Patients with Actinic Keratoses Evaluated by Means of Skin Analysis Camera Antera 3D. *J Clin Exp Dermatol Res* 2015;6:263.
40. Gupta AK, Paquet M, Villanueva E, Brintnell W. Interventions for actinic keratoses. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;12:CD004415.
41. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100(1):57-70.
42. Batista LF, Kaina B, Meneghini R, Menck CF. How DNA lesions are turned into powerful killing structures: insights from UV-induced apoptosis. *Mutat Res*. 2009;681(2-3):197-208.
43. Assefa Z, van Laethem A, Garmyn M, Agostinis P. Ultraviolet radiation-induced apoptosis in keratinocytes: on the role of cytosolic factors. *Biochim Biophys Acta* 2005;1755(2):90-106.