Capítulo 3

PROCESOS FOTOSENSIBILIZADOS EN MOLÉCULAS SIMPLES Y BIOMOLÉCULAS

Se denomina fotosensibilización a todo proceso por el cual una especie química sufre una alteración fotoquímica o fotofísica como resultado de la absorción inicial de luz por otra especie química denominada fotosensibilizador (o simplemente sensibilizador) [Scaiano, 1989].

La fotosensibilización y el *quenching* juegan un papel muy importante en muchos aspectos de la fotoquímica orgánica [Turro, 1991]. Ambos procesos pueden involucrar transferencias de energía del tipo:

$$M^* + A \longrightarrow M + A^*$$

La transferencia intermolecular de energía de una especie a otra, conduce a la excitación de especies no absorbentes (a una longitud de onda dada), que pueden involucrarse en cambios químicos que no son posibles por absorción directa de la luz de dicha longitud de onda. Esta vía diferente de excitación puede poblar estados excitados distintos a los obtenidos por absorción directa, y por lo tanto, se pueden observar otras reacciones químicas [Wayne y Wayne, 1996].

Este mecanismo es responsable de reacciones fotosensibilizadas y de procesos de *quenching* bi-molecular de emisión. En las reacciones fotosensibilizadas una molécula transparente (A) a la longitud de onda de excitación sufre reacción a consecuencia de su interacción con otra molécula (M) que sí absorbe. Los procesos de *quenching*, por su parte, se abordan más adelante, pero implican la desexcitación de la molécula que absorbe (M) por interacción

con otra molécula. Estos mecanismos de transferencia de energía y sus consecuencias pueden sintetizarse con las ecuaciones de la figura 3.1.

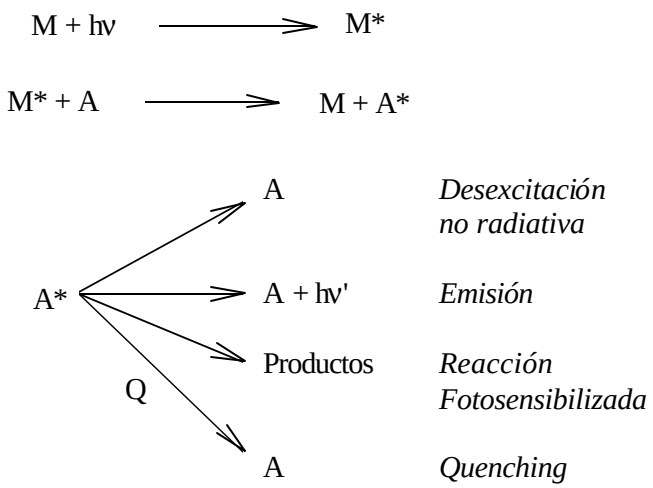

Figura 3.1: Procesos de transferencia de energía.

En esta reacción A resulta "sensibilizada" por radiación de una longitud de onda no absorbida por A sino por M. La energía de excitación es obtenida por M mediante la absorción de un fotón, para generar M*, y posteriormente la energía se transfiere a A. Por las características de esta reacción la cantidad de energía en A* debe ser menor a la absorbida por M. Así una molécula M* puede ser relajada por una molécula A adecuada. La sensibilización es una técnica muy usada en química orgánica [Gilbert y Baggott, 1991]. En el esquema, Q es una tercer molécula que puede estar presente en el medio (*quencher*). Mediante un choque entre Q y A*, A* resulta desactivada por un mecanismo de *quenching*.

Los procesos de fotosensibilización son muy importantes en el campo de la química orgánica para generar estados tripletes. Esto se debe a que muchas moléculas orgánicas no pueden acceder fácilmente al estado triplete por absorción directa desde el estado basal singlete, a causa de sus bajos rendimientos cuánticos de producción de estados tripletes. Por otra parte, la química de estados tripletes y

singletes es, a menudo, muy diferente y, frecuentemente, se necesitan generar estados tripletes para su estudio o para producir reacciones particulares. Sin embargo, la transferencia de energía entre moléculas resulta ser un camino eficiente para obtener moléculas en estado triplete.

Un fotosensibilizador de tripletes debe reunir algunas características. Un *fotosensibilizador ideal* posee las siguientes:

1) Una velocidad de cruzamiento intersistemas mucho más alta que la desactivación del estado S_1 por otras vías.
2) Una energía de triplete más alta que los aceptores, permitiendo una transferencia de energía exotérmica.
3) Un tiempo de vida de triplete alto, para maximizar la eficiencia del proceso de transferencia de energía.
4) Una importante absorción en la región del espectro donde el aceptor no absorbe considerablemente.
5) Una baja reactividad química para permitir reacciones fotosensibilizadas con un aceptor.

No existe dicho fotosensibilizador ideal. Sin embargo, puede encontrarse el fotosensibilizador adecuado de acuerdo a las características de la molécula que se pretende fotosensibilizar. El parámetro más importante al seleccionar un fotosensibilizador es la diferencia de energía entre el fotosensibilizador excitado y el aceptor excitado, porque solamente ocurrirá la fotosensibilización si la transferencia de energía es exotérmica [Turro, 1991].

Oxígeno singlete

El oxígeno es el elemento más abundante sobre la corteza terrestre, principalmente en su forma de molécula biatómica gaseosa, constituyendo el 21 % en volumen del aire seco. Por ello su presencia es casi inevitable en cualquier sistema de reacción [Foote *et al.*, 1995]. Es uno de los elementos más importantes desde el punto de vista biológico debido a que reacciones en las que participa el

oxígeno molecular proveen la fuerza termodinámica necesaria para el metabolismo de todos los organismos superiores. Su alto contenido energético, su gran reactividad y sus estados excitados, de relativamente baja energía, hacen al oxígeno molecular una especie muy importante desde el punto de vista fotoquímico.

Para entender la reactividad química del oxígeno es necesario conocer su estructura electrónica. El oxígeno atómico tiene número atómico ocho y, considerando los orbitales atómicos, una configuración $1s^2\ 2s^2\ 2p^4$. Los estados resultantes de considerar esta configuración electrónica pueden representarse esquemáticamente como se muestra en la Figura 3.2.

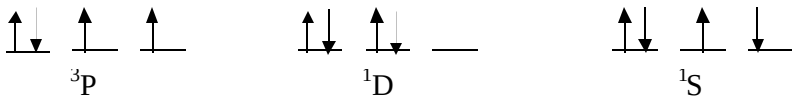

Figura 3.2: Configuraciones posibles de los orbitales 2*p* del átomo de oxígeno. Debajo de cada configuración está el símbolo correspondiente.

Según la regla de Hund el estado basal es aquél de mayor multiplicidad de spin. Por lo tanto, la primera configuración de la figura, que tiene multiplicidad 3, corresponde al estado basal. Así el átomo de oxígeno en su estado basal es un *triplete*. La segunda configuración, un singlete ^{1}D, corresponde al primer estado excitado del oxígeno atómico. La configuración ^{1}S es el segundo estado excitado, también singlete.

Para el oxígeno molecular pueden hacerse las mismas consideraciones. Con la teoría de orbitales moleculares se puede construir un diagrama para el estado basal del oxígeno molecular, que posee 16 electrones. La configuración resultante es $(\sigma_{1s})^2\ (\sigma^*_{1s})^2\ (\sigma_{2s})^2\ (\sigma^*_{2s})^2\ (\sigma_{2p})^2\ (\pi_{2p})^4\ (\pi^*_{2p})^2$. Esto da tres estados electrónicos correspondientes a tres arreglos posibles para los electrones.

El estado basal del O_2 es un triplete ($^3\Sigma^-$), paramagnético, debido a sus dos electrones no apareados. Los dos estados electrónicamente excitados

energéticamente más próximos son singletes, cuyas notaciones espectroscópicas son $^1\Delta_g$ y $^1\Sigma_g^+$. En la Figura 3.3 puede apreciarse el diagrama de energía para el O_2. De los dos mencionados estados excitados sólo el de menor energía ($^1\Delta_g$) parece jugar un papel significativo en reacciones en solución y es este estado al cual se denomina comúnmente oxígeno singlete o, simplemente, $^1O_2$. Se encuentra a 22,5 Kcal/mol sobre el estado basal. Esta especie emite luz fosforescente en la región del infrarrojo (1270 nm). El estado de mayor energía ($^1\Sigma_g^+$), por su parte, se desactiva tan rápidamente al $^1\Delta_g$ que no tiene chances de participar en reacciones [Foote *et al*., 1995]. El oxígeno singlete ($^1O_2$) es, entonces, una especie electrónicamente excitada del oxígeno molecular (O_2) y participa en numerosas reacciones de oxidación como especie activada.

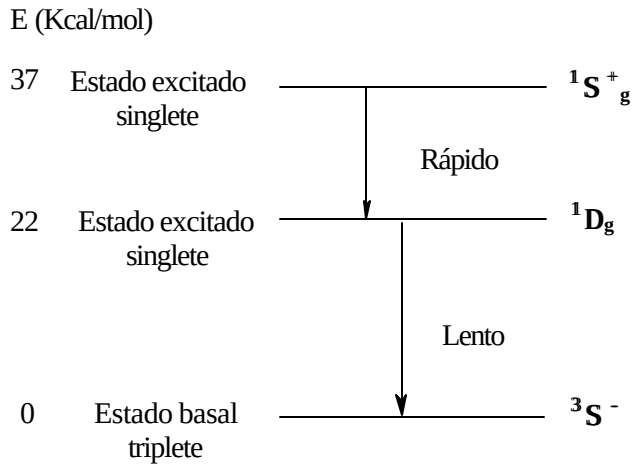

Figura 3.3: Diagrama de energía para el O_2.

El oxígeno singlete es una especie electrofílica sumamente reactiva y tiene la capacidad de atacar rápidamente a los compuestos orgánicos. Es alrededor de 1000 veces más reactivo que el estado basal del oxígeno. Esta mayor reactividad se debe simplemente a que numerosas sustancias con las que reacciona se encuentran en estado basal singlete, entonces la reacción es singlete-singlete, más

probable que una reacción triplete-singlete, como debería ser con el oxígeno en su estado basal. Existe una gran variedad de reacciones entre las cuales pueden destacarse las siguientes: cicloadiciones [4 + 2] con 1,3-dienos para formar endoperóxidos, cicloadiciones [2 + 2] con compuestos que presentan dobles enlaces aislados para formar los correspondientes dioxoetanos y otro tipo de ataque a dobles enlaces aislados en los cuales se generan hidroperóxidos (Figura 3.4). En todas estas reacciones los productos primarios formados pueden sufrir reordenamientos para dar una amplia gama de productos oxidados estables. El oxígeno singlete reacciona *in vitro* con macromoléculas de fundamental importancia para los seres vivos [Nilsson *et al.*, 1972]. En los sistemas biológicos el oxígeno singlete causa daños a los tejidos y muerte celular al afectar estructuras subcelulares [Stanier *et al.*, 1984; Henderson y Dougherty, 1992; Straight y Spikes, 1985].

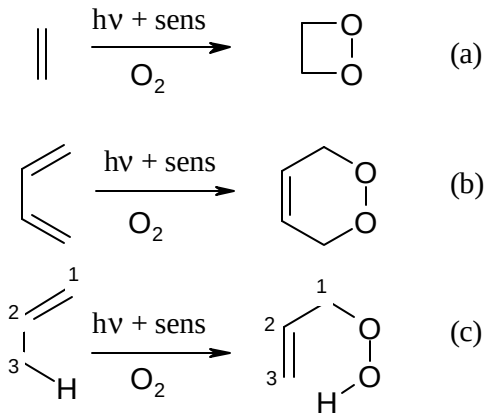

Figura 3.4: Fotooxidaciones mediadas por oxígeno singlete: (a) cicloadición [2 + 2], (b) cicloadición [2 + 4], (c) adición 1,3-eno.

El oxígeno singlete se desactiva emitiendo luz y transfiriendo su energía al solvente. Por ello su tiempo de vida es fuertemente dependiente de las características vibracionales del mismo. Los solventes con frecuencias vibracionales altas provocan una más eficiente relajación y el tiempo de vida del

oxígeno singlete en ellos es muy corto. El agua posee una fuerte vibración O-H próxima a 3600 cm^{-1}, por esta razón, el oxígeno singlete presenta un tiempo de vida mucho menor en medio acuoso (3 a 4 *m*s [Foote y Clennan, 1995]) que en otros solventes. El reemplazo de agua común por agua deuterada (agua pesada) disminuye la velocidad de desactivación del estado singlete aproximadamente un orden de magnitud debido a que las frecuencias vibracionales disminuyen (62 *m*s [Martínez *et al*, 2000]).

La rápida desactivación del oxígeno singlete en agua indica que en los sistemas biológicos el tiempo de vida del oxígeno singlete es extremadamente corto, porque son sistemas acuosos. Además es probable que sea aún menor que en agua debido a *quenching* por los componentes de los sistemas biológicos. Puede esperarse que sobre las membranas (de composición mayoritariamente lipídica) el tiempo de vida del oxígeno singlete sea más largo, como se observa en solventes orgánicos.

Existen dos fuentes principales para generar oxígeno singlete: fotoquímica y química. Esta última implica una reacción química en la cual uno de los productos es el O_2 electrónicamente excitado. Hay muchas reacciones químicas, siendo uno de los ejemplos mejor conocidos la reacción del NaClO con H_2O_2. También se han encontrado reacciones *in vivo* que producen oxígeno singlete, como, por ejemplo, la oxidación del ión superóxido o sistemas enzimáticos capaces de generarlo.

La generación fotoquímica consiste en la transferencia de energía desde una molécula electrónicamente excitada debido a la absorción de un cuanto de luz, denominada comúnmente sensibilizador, al O_2. Como consecuencia de esta transferencia se regenera el sensibilizador en su estado basal y el O_2 queda en su estado excitado singlete.

En general, cuando el sensibilizador (^{1}Sens) es una molécula orgánica, la absorción de luz genera un estado excitado singlete (^{1}Sens*), el cual, mediante cruzamiento intersistemas, genera cierta proporción de moléculas en estado triplete (^{3}Sens*) de mayor tiempo de vida (Ecuación 1). Es este estado triplete del

sensibilizador el que tiene la capacidad de transferir su energía hacia el $^3O_2$ disuelto en el medio (Ecuación 2).

$$^1\text{Sens} \xrightarrow{h\nu} {}^1\text{Sens}^* \xrightarrow{k_{ISC}} {}^3\text{Sens}^* \qquad (1)$$

$$^3\text{Sens}^* + {}^3O_2 \xrightarrow{k_{et}} {}^1\text{Sens} + {}^1O_2 \qquad (2)$$

El oxígeno singlete, así formado, puede desactivarse por las dos vías mencionadas anteriormente: en forma *no radiativa*, por transferencia de energía al solvente, o *radiativa*, emitiendo luz (Ecuaciones 3 y 4, respectivamente). En general, la velocidad de esta última vía de desactivación es mucho menor que la forma no radiativa ($k_d >> k_e$). Si alguna sustancia (Q) en el medio es capaz de atrapar al oxígeno singlete, es decir, de actuar como desactivador (*quencher*) del oxígeno singlete, deben ser consideradas las posibilidades de *quenching* químico o físico (Ecuaciones 5 y 6, respectivamente).

$$^1O_2 \xrightarrow{k_d} {}^3O_2 \qquad (3)$$

$$^1O_2 \xrightarrow{k_e} {}^3O_2 + h\nu' \qquad (4)$$

$$Q + {}^1O_2 \xrightarrow{k_r} QO_2 \qquad (5)$$

$$Q + {}^1O_2 \xrightarrow{k_q} Q + {}^3O_2 \qquad (6)$$

El *quenching* físico puede ocurrir principalmente por dos mecanismos: transferencia de energía y transferencia de carga. El primer mecanismo es exactamente el camino inverso a la producción fotosensibilizada de oxígeno singlete, y ocurre fácilmente si está presente una molécula cuya energía de excitación al triplete sea menor que la del oxígeno. Un ejemplo de este mecanismo puede observarse en presencia de carotenos, que tienen un papel muy importante protegiendo de daño foto-oxidativo a los sistemas fotosintéticos. El

segundo mecanismo ocurre en presencia de moléculas ricas en electrones. El proceso parece ocurrir por una transferencia de cargas parcial:

$$Q + {}^{1}O_2 \longrightarrow {}^{+}Q\text{---}O_2^{-} \longrightarrow Q + {}^{3}O_2$$

Muchas moléculas presentes en los seres vivos son capaces de generar oxígeno singlete fotoquímicamente, entre las que se encuentran las porfirinas y las flavinas. Además estas moléculas pueden ser excitadas mediante luz visible y luz UV del tipo UV-A o UV-B; es decir, que pueden excitarse por exposición a la luz solar. En consecuencia, pueden ocurrir *in vivo* procesos de fotosensibilización en los cuales se genere oxígeno singlete y, por consiguiente, las biomoléculas resulten oxidadas.

Tal como se describió en el Capítulo anterior, las pterinas están ampliamente distribuidas en los sistemas biológicos y absorben luz UV-A y UV-B. Además, se ha sugerido la capacidad de algunos miembros de la familia de las pterinas para generar oxígeno singlete fotoquímicamente. [Chahidi *et al*, 1981; Ledbetter *et al*, 1995]. En el año 1996 fue informado el rendimiento cuántico de producción de oxígeno singlete en soluciones de 6,7-dimetilpterina y 6-tetrahidroxibutilpterina [Neverov *et al*, 1996]. Sin embargo, no han sido publicados resultados sobre rendimientos cuánticos con otras pterinas, aún aquéllas que se encuentran más frecuentemente en sistemas biológicos como biopterina, neopterina o ácido fólico. Por otro lado, se ha propuesto la participación del oxígeno singlete en la degradación fotoquímica del ácido fólico [Thomas *et al*, 2000; Thomas *et al*, 2002].Debido a ello, es interesante investigar la capacidad de estas moléculas para generar oxígeno singlete.

Oxidaciones fotosensibilizadas.

Se conoce que un organismo puede morir al ser expuesto a la luz en presencia de oxígeno y un sensibilizador adecuado [Stanier *et al*., 1984]. Los

efectos patológicos de la oxidación de constituyentes celulares pueden ser muy severos, incluyendo mutaciones y cáncer.

Las oxidaciones fotosensibilizadas que ocurren en presencia de oxígeno se esquematizan en la Figura 3.5. El sensibilizador excitado puede desactivarse mediante dos procesos competentes, según reaccione con el oxígeno o no. Estos mecanismos están clasificados por C. S. Foote como fotooxidaciones de Tipo I y de Tipo II [Foote, 1991].

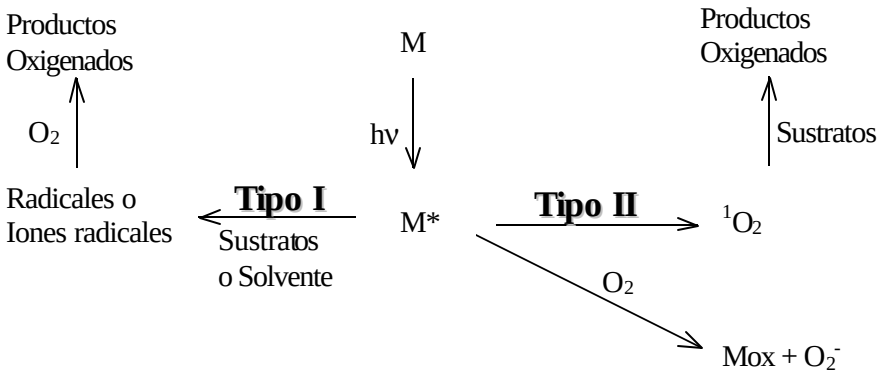

Figura 3.5: Oxidaciones fotosensibilizadas de Tipo I y de Tipo II [Foote, 1991].

M* puede ser un singlete o, más frecuentemente, un triplete. Puede reaccionar con el sustrato o el solvente (mecanismo Tipo I) o con el oxígeno molecular (mecanismo Tipo II). El mecanismo de Tipo I involucra una transferencia de electrones o un proceso de abstracción de hidrógeno, en donde se producen radicales o iones radicales por reacción del sensibilizador con el solvente o un sustrato (Figura 3.6). La transferencia puede ocurrir en las dos direcciones, pero generalmente el sensibilizador excitado, M*, se comporta como oxidante. Los radicales aniones pueden, a su vez, generar, por reacción con el oxígeno, el anión superóxido, una especie intermediaria muy reactiva que puede por diversos mecanismos oxidar al sustrato. Los radicales generados por

abstracción de un átomo de hidrógeno pueden, por su parte, reaccionar directamente con el oxígeno para dar productos oxidados.

(a)

$$M^{*} + S \longrightarrow M^{\bullet -} + S^{\bullet +}$$

$$M^{*} + S \longrightarrow M^{\bullet +} + S^{\bullet -}$$

$$M^{\bullet -} + O_2 \longrightarrow M + O_2^{\bullet -}$$

$$S^{\bullet -} + O_2 \longrightarrow S + O_2^{\bullet -}$$

(b)

$$M^{*} + SH \longrightarrow MH^{\bullet} + S^{\bullet}$$

$$S^{\bullet} + {}^{3}O_2 \longrightarrow SO_2^{\bullet}$$

Figura 3.6: Reacciones que pueden ocurrir en fotooxidaciones de Tipo I. S representa una molécula del sovente o del sustrato. (a) Transferencia de electrones. (b) Abstracción de un átomo de hidrógeno.

El mecanismo de Tipo II es una producción de oxígeno molecular singlete por procesos de transferencia de energía, explicados en la sección anterior. El oxígeno molecular en estado basal triplete interacciona con el estado triplete excitado del sensibilizador pasando a un estado excitado singlete. De esta forma, M* es desactivado por oxígeno produciendo oxígeno singlete. Luego esta especie reacciona con el sustrato oxidándolo.

Finalmente, en algunos casos, puede existir una transferencia de electrones desde el sensibilizador excitado hacia el oxígeno, generando una forma oxidada del sensibilizador y el anión superóxido. Esta especie reactiva puede, posteriormente, atacar a un sustrato, oxidándolo. Este mecanismo entra en la categoría de mecanismos de Tipo II, de acuerdo a la clasificación dada, debido a que el sensibilizador excitado reacciona directamente con el oxígeno.

Fotosensibilización de nucleótidos y ácido desoxirribonucleico.

El ácido desoxirribonucleico, cuya estructura química se detalla en el *Capítulo 4*, puede ser dañado por luz UV. Es habitual dividir la luz UV en tres regiones diferentes según la longitud de onda: luz UV-A (con longitudes de onda entre 320 y 400 nm), UV-B (con longitudes de onda entre 290 y 320 nm) y UV-C (longitudes de onda menores a 290 nm). Cada región de luz UV produce diferentes daños a una molécula de ácido desoxirribonucleico y sus componentes (Figura 3.7).

La luz ultravioleta daña al ácido desoxirribonucleico en forma directa. En efecto, cuando el ácido desoxirribonucleico absorbe luz UV se producen reacciones fotoquímicas que conducen al daño de la biomolécula. Las bases pirimídicas son las más sensibles, generando básicamente dos tipos de lesiones: dímeros de pirimidina y fotoaductos de pirimidina. El daño por luz UV-C es un principalmente un proceso de dimerización, que conduce a la formación de dímeros ciclobutil-pirimidina, con dos moléculas de pirimidina unidas entre sus respectivos átomos C^5 y C^6, formando un anillo de ciclobutano entre las dos bases. Pueden encontrase dímeros entre timina (T) y citosina (C): T-T, C-T, T-C y C-C. Este proceso de dimerización ocurre con luz de 290 nm. A longitudes de onda más cortas, 240 nm, se revierte este daño por un proceso de monomerización, debido a que los dímeros absorben luz de longitud de onda menor a 260 nm. Un segundo tipo de daño por luz UV-C es otro tipo de dimerización en donde se producen aductos primidina-(6,4)-pirimidona. Este proceso, a diferencia del anterior, no es reversible. Existen diferentes mecanismos de reparación que involucran sistemas enzimáticos o químicos. Estos procesos conducen *in vivo* a la generación de mutaciones y a la alteración de las funciones de los cromosomas. Los componentes responsables de la absorción de luz en el ácido desoxirribonucleico son las bases nitrogenadas que tienen máximos de absorción cercanos a 260 nm (ver descripción química de nucleótidos y ácidos nucleicos en el *Capítulo 4*). Debido a esto la luz más dañina para el ácido desoxirribonucleico es la de tipo UV-C. La luz UV-B, por su parte, también

produce alteraciones, pero con menor eficiencia. Por último, el ácido desoxirribonucleico no absorbe la luz UV-A y, por ende, no es dañado directamente por ella.

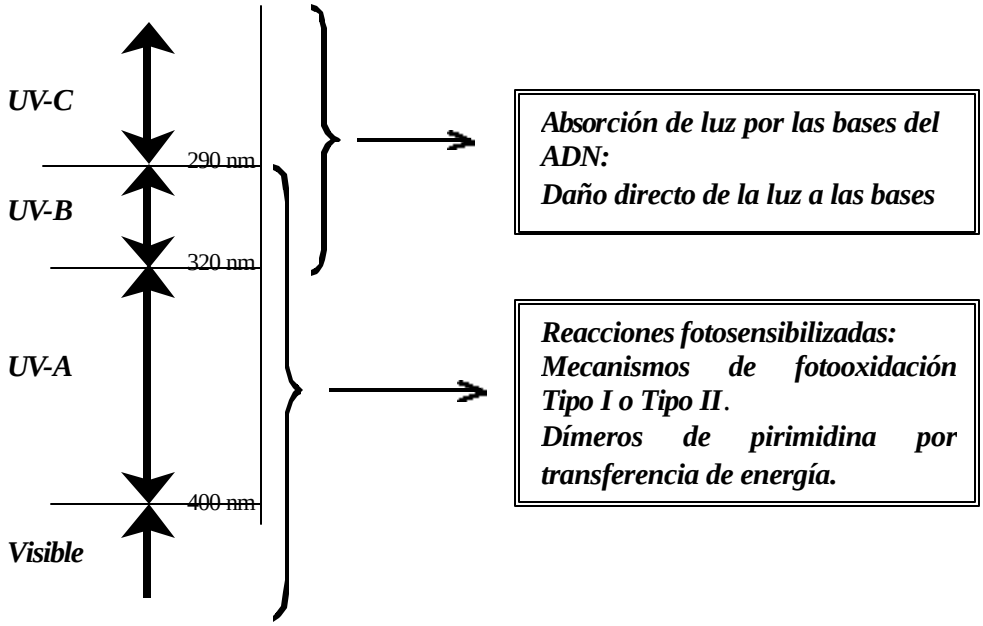

Figura 3.7: Relación entre el tipo de daño al ácido desoxirribonucleico y la longitud de onda de la irradiación.

Es sabido que la radiación solar es un agente genotóxico [Ravanat *et al.*, 2001]. A pesar de que, como se mencionó, las reacciones fotoquímicas son más eficientes con luz UV-C, esta no es relevante durante la exposición a la luz solar, debido a que la luz UV-C que alcanza la superficie terrestre es filtrada por el ozono. Así la luz que llega a la tierra tiene longitudes de onda mayores a 290 nm. El componente de luz UV-B de la radiación solar es extremadamente dañino y mutagénico para el ácido desoxirribonucleico. La porción de luz de longitud de onda de 290 a 320 nm es el componente más energético de la radiación solar que llega a la superficie terrestre. De hecho, la luz UV-B ha demostrado ser muy

efectiva en la producción de cáncer de piel, en estudios con animales de laboratorio.

Sin embargo, la luz de mayor longitud de onda o luz UV-A (320-400 nm), que no es absorbida por estas moléculas es reconocida también por su capacidad mutagénica y carcinogénica. Existe evidencia de que este daño generado al ácido desoxirribonucleico ocurre mediante reacciones fotosensibilizadas en presencia de luz UV-A. Para ello se requiere la absorción de la luz UV-A por alguna otra molécula. Esta acción indirecta de la luz UV, mediada por moléculas distintas al ácido desoxirribonucleico, puede ser ocasionada por un proceso de fotooxidación, de Tipo I o Tipo II (Figura 3.5), o por una transferencia de energía. Cada uno de estos procesos conduce a distintos tipos de alteraciones químicas en el ácido desoxirribonucleico:

Reacciones de fotooxidación Tipo I: Las bases nucleicas son sustratos preferenciales para reacciones de fotooxidación tipo I. Las purinas tienen menor potencial de reducción que las pirimidinas, siendo la guanina oxidada más fácilmente que la adenina. Las pirimidinas tienen potenciales mayores y similares entre ellas [Ravanat *et al.*, 2001].

Reacciones de fotooxidación Tipo II: El oxígeno singlete está presente en reacciones de este tipo. Esta especie electrónicamente excitada reacciona muy fácilmente con moléculas ricas en electrones. De las cuatro bases del ácido desoxirribonucleico, la guanina es la elegida para reaccionar con el oxígeno singlete. Esta oxidación ocurre por la generación de un endoperóxido inestable que conduce a la formación de 4-hidroxi-8-oxo-4,8-dihidro-2'-deoxiguanosina. Esta base es un marcador excelente de estrés oxidativo de moléculas de ácido desoxirribonucleico, pero puede ser producido por agentes diferentes al oxígeno singlete, como peroxinitrito, radical OH, otros oxidantes. Además la 4-hidroxi-8-oxo-4,8-dihidro-2'-deoxiguanosina tiene un potencial de oxidación mucho menor que la 2'-deoxiguanosina, siendo entonces un excelente sustrato para reacciones de Tipo I y de Tipo II [Ravanat *et al*, 2001].

Los procesos de transferencia de energía pueden ocurrir si la energía del estado triplete del fotosensibilizador es mayor que la del estado triplete de la pirimidina. Esto conduce a la formación de dímeros de timina.

Es evidente que las bases nucleicas están expuestas a numerosas modificaciones. Estos daños deben ser reparados para evitar las mutaciones. Por ello las células han desarrollado mecanismos de reparación muy eficientes. Las lesiones que no son reparadas y perduran, pueden causar mutaciones de los genes o aún la muerte celular. A veces estas mutaciones, consecuencia de la oxidación del ácido desoxirribonucleico, pueden causar cáncer.

Todos estos procesos fotosensibilizados ocurren *in vivo* con la participación de diferentes cromóforos que actúan como sensibilizadores. Es evidente la importancia de descubrir cuáles sustancias pueden participar en estos procesos.

Aplicaciones médicas de la fotosensibilización de ácido desoxirribonucleico.

La fotoexcitación de colorantes aromáticos en presencia de ácido desoxirribonucleico puede inducir alteraciones sobre su estructura. A pesar de que este fenómeno tiene consecuencias indeseables *in vivo*, las mutaciones, puede usarse en aplicaciones positivas, como foto-esterilización de productos sanguíneos para transfusión [Minnock *et al*, 1996; Müller-Breitkreutz *et al*, 1995] o terapia-fotodinámica de tumores cancerígenos [Henderson y Dougherty,1992; Hönigsmann *et al*].

Las transfusiones sanguíneas están asociadas a riesgos de transmisión de infecciones virales, como HIV, virus de hepatitis A, B y C y herpes simple entre otros. La esterilización por calor de la sangre es muy efectiva y ha sido extensamente utilizada, pero provoca severos daños sobre los componentes celulares. Así la foto-descontaminación de la sangre es una de las técnicas más prometedoras para destruir los virus. Se adiciona un fotosensibilizador a una muestra de sangre y se ilumina con una fuente de luz apropiada. El fotosensibilizador no debe ser removido, debido a que se usa en una muy pequeña concentración, ya que durante el proceso de fotosensibilización no se consume. Por este método pueden esterilizarse sangre, plasma, concentrado de plaquetas y concentrados de células sanguíneas. Para algunos virus, como el parvovirus B19 y

el virus de la hepatitis A, muy resistentes a la esterilización por calor o agentes químicos, se ha observado que la foto-esterilización es un método particularmente apropiado.

La terapia foto-dinámica se utiliza para tratar patologías como infecciones virales o bacterianas, problemas de piel y, mucho más especialmente, para el tratamiento de cánceres muy localizados. El método se basa en lograr una alta concentración del colorante sólo en la zona afectada, y someterla a luz UV o visible que lleven a la destrucción de las células dañadas. La mayor ventaja de este método es la posibilidad de irradiar un área muy bien definida, mediante láser o fibras ópticas, sin dañar el tejido circundante. Sin embargo, los fotosensibilizadores actualmente en uso, porfirinas y hematoporfirinas, tienen algunos efectos secundarios, siendo por ello necesario encontrar fotosensibilizadores más adecuados.

No es el objetivo final de este trabajo de tesis encontrar aplicaciones inmediatas de la fotosensibilización de ácido desoxirribonucleico, pero sí se pretende caracterizar fotofísicamente a un conjunto de sustancias orgánicas presentes en los seres vivos, en principio no tóxicas para ellos, con potencial para actuar como fotosensibilizadores.