

207-24



Universidad Nacional Autónoma de México

Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza

ESTUDIOS DE FORMULACION Y CARACTERISTICAS DE CALIDAD
DE UN POLIMERO GELATINA - RESORCINOL - FORMOL COMO
PRODUCTO BIOLÓGICO PARA SU USO EN CLÍNICA

T E S I S

Que para obtener el Título de
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGICO

presenta

JOSEFINA PEREZ VARGAS





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

INTRDUCCION	1
FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA	
Homeostasia	2
Actividad tromboplástica	6
Fase IA	6
Fase IB	8
Fases II y III	9
Fase IV	10
Coagulantes	10
1.-Coagulante de acción local ó agentes hemostáticos	11
2.-Coagulantes de Acción general	12
Polimeros y polimerización	
Polimerización por reacción en cadena.....	13
Polimerización por reacción en etapas	14
Generalidades de las Materias Primas Utilizadas	
Resorcinol.....	20
Gelatina	21
Formaldehído.....	22
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	24
OBJETIVO	26
HIPOTESIS	27
DISENO EXPERIMENTAL.....	28
MATERIAL Y EQUIPO	31
REACTIVOS	32
METODOLOGIA	33

RESULTADOS	34
CONCLUSIONES	54
BIBLIOGRAFIA	58

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

ESQUEMA 1	4
TABLA I	5
FIGURA 1	7
FIGURA 2	9
FIGURA 3	16
FIGURA 4	18
FIGURA 5	19
TABLA II	20
TABLA III	23
TABLA IV	30
TABLA V	35
TABLA VI	36
TABLA VII	38
TABLA VIII	39
TABLA IX	41
TABLA X	42
FIGURA 6	43
FIGURA 7	44
TABLA XI	46
TABLA XII	47
FIGURA 8	49
FIGURA 9	50
TABLA XIII	51

INTRODUCCION

El presente trabajo es un estudio sobre un polimero de Gelatina-Resorcinol-Formol, que puede ser empleado como agente coagulante, especialmente en aquellas cirugias donde no es posible usar sutura, como son las de tipo interno.

En estudios clinicos de este producto, se ha observado que pequenas deficiencias en el proceso de fabricacion disminuyen su calidad y como consecuencia su eficiencia. La bibliografia no reporta los parametros de evaluacion que garanticen la calidad del producto. En este estudio se proponen varias alternativas de procesos de fabricacion para obtener un producto de uso en clinica que sea eficaz en el cierre de la herida, tanto superficial como interna, que no produzca una agresion tisular fuerte en el momento de su aplicacion, que sea esteril y fisicamente estable como minimo durante un periodo de 6 meses. Para ello se evaluaron diversos parametros de proceso y producto terminado, los cuales son indicadores de la calidad del producto.

FUNDAMENTACION DE LA ELECCION
DEL TEMA

El polímero de Gelatina-Resorcinol-Formaldehido es un agente hemostático, es decir, que puede ser utilizado en la Hemostasia -detención de la hemorragia- la cual constituye muchas veces un problema mecánico y se realiza en el caso de las lesiones de vasos accesibles, mediante la ligadura o sutura del tejido que los engloba y comprime, por esta razón los agentes coagulantes ó hemostáticos más importantes son aquéllos que promueven ó favorecen la coagulación sanguínea.

H E M O S T A S I A

Una vez producida la herida con apertura de vasos, la sangre se derrama, denominándosele hemorragia a éste fenómeno, pero la salida de ésta cosa rápidamente, denominándose Hemostasia a la detención de la hemorragia. El mecanismo de la hemorragia es cuádruple y las etapas son las siguientes(1,2).

- 1.- Vascular
- 2.- Extravasular (tejidos circunvecinos)
- 3.- Aglutinación de Plaquetas
- 4.- Coagulación de la Sangre

Etapas I .- Es de gran importancia la constricción de los vasos , esta constricción detiene inmediatamente la hemorragia, la detención es probablemente de naturaleza refleja y dura un lapso, en el cual proceden las otras etapas de la hemostasia.

Etapa II .- La sangre se ha extravasado encontrando la resistencia de los tejidos circunvecinos, tales como el muscular, subcutáneo, y la piel, formando una masa a la que se le llama hematoma, la cual ejerce una presión que comprime y cierra los vasos lesionados.

Etapa III.- Es la aglutinación de las plaquetas, las cuales se adhieren y se aglutinan cuando el flujo de la sangre de los vasos ha disminuido, cerrando los orificios y formando trombos blancos. Las plaquetas originan un agente vasoconstrictor llamado serotonina la cual provoca el cierre de los vasos de zona traumatizada.

Etapa IV .- Finalmente, ocurre la coagulación de la sangre, la cual lleva a la oclusión definitiva del vaso lesionado, y a menos que la respuesta vascular primitiva produzca suficiente estasis, la sangre saldrá demasiado rápido de los vasos seccionados para permitir la formación del coágulo a nivel de la abertura vascular. En la sangre estancada el coágulo puede formarse, adherirse y luego retraerse cerrando los vasos.

El proceso de la coagulación sanguínea ha sido descrito por varios autores que han propuesto modelos para explicar el mecanismo de la coagulación uno de los cuales es el que propone Alexander (3,4), el cual es dinámico y no estático como se muestra en el esquema I.

Este esquema está dividido en varias etapas o fases, así mismo se citan los factores y los sinónimos, los cuales se pueden identificar si se observa la tabla I.

ESQUEMA I

PROCESO DE LAS REACCIONES DE LA COAGULACION SANGUINEA

FASE I Formación de la actividad tromboplástica

FASE IA Elaboración de la actividad tromboplástica Intrínseca

- sup. extrana
- 1.-Factor XII -----> Factor Hageman act.
 - 2.-Factor XIIact. + XI -----> Complejo (HF + PTA)
 - 3.-Complejo(HF + PTA) + IX + IV -----> Fac. IX act.
 - 4.-Fact. IXact. + VIII + X + IV -----> Prod.Int. 1 (P.Int.1)
 - 5.-P.Int.1 + Fac.3 Plaquetas + IV --> Prod.Int. 2 (P.Int.2)
 - 6.-P,Int.2 + V + IV -----> Tromboplastina Intrínseca

FASE IB Elaboración de la Tromboplastina Extrínseca

- 1.-Tejido -----> Factor III
- 2.-Fac.III + VII + IV -----> Fac.VII act.
- 3.-Fact.VIIact. + V + X + IV -----> Tromboplastina Extrínseca

FASE II Formación de Trombina a partir del Factor II

FASE IIA Sistema Intrínseco

Tromboplastina Intrínseca + II + IV ----> Trombina

FASE IIB Sistema Extrínseco

Tromboplastina Extrínseca + II + IV ----> Trombina

FASE III Formación de fibrina a partir del Factor I

- Trombina + Factor I -----> Fibrina + Fibrinopéptido
- Trombina + Antitrombina -----> Metatrombina

FASE IV Disolución de la fibrina por fibrinolisisina

- Activador + Profibrinolisisina -----> Fibrinolisisina
- Fibrinolisisina + Fibrina -----> Fibrina Lisada
- Activador + Factor I -----> Fibrinog. Eloq.ó Dest.
- Activador + Antifibrinolisisina -----> Fibrinolisisina Dest.

=====
The American Journal of Medicine(17,18,19,20)

TABLA I
FACTORES DE LA COAGULACION SANGUINEA

NUMERO DE FACTOR	SINONIMOS DE LOS FACTORES
I	FIBRINOGENO
II	PROTROMBINA, TROMBINA
III	TROMBOPLASTINA, TROMBOPLASTINA TISULAR
IV	CALCIO
V	PROACELERINA, FACTOR LABIL, GLOBULINA AC DEL PLASMA, AC-G, FACTOR ACELERADOR, FACTOR DE CONVERSION DE PROTROMBINA DEL PLASMA.
VII	PROCONVERTINA, CONVERTINA, ACELERADOR CERICO DE CONVERSION DE PROTROMBINA, SPCA, FACTOR ESTABLE, PROTROMBINOGENO, AUTOPROTROMBINA I.
VIII	FACTOR ANTIHEMOFILICO B, AHF, GLOBULINA ANTIHEMOFILICA AHG, FACTOR ANTIHEMOFILICO A, COFACTOR DE PLACUETAS I, TROMBOPLASTINOGENO, TROMBOCITOLISINA.
IX	COMPONENTE TROMBOPLASTICO DEL PLASMA, PTC FACTOR CHRISTMAS, CP, FACTOR HEMOFILICO B, AUTOPROTROMBINA II
X	FACTOR STUART-PRONER, FACTOR STUART, FACTOR PRONER.
XI	ANTECEDENTE PLASMATICO DE TROMBOPLASTINA, PTA, FACTOR HEMOFILICO C, ACELERADOR DE LA PREFASE, PFA.
XII	FACTOR HAGERMAN, HF.
XIII	FACTOR ESTABILIZANTE DE LA FIBRINA.

 The American of Journal of Medicine(18, 20, 21)

Para que la serie de reacciones se inicie es necesario que la actividad tromboplástica se desarrolle, y ésta puede llevarse a cabo por los medios intrínseco y extrínseco. Estos mecanismos pueden ponerse en marcha por traumatismo de la sangre o por contacto con la colágena fuera del endotelio vascular, esto en cualquiera de los casos provoca la formación del activador de protrombina, que es el iniciador inmediato de la trombina.

Las fases de las que consta el esquema de la coagulación en cascada son las siguientes:

FASE IA.- Actividad Tromboplastica

FASE II.- Formación de Trombina a partir del Factor II

FASE III.- Formación de la Fibrina a partir del Factor I

FASE IV.- Disolución de la Fibrina por la Fibrinolisisina

FASE I.- ACTIVIDAD TROMBOPLASTICA

F A S E I A

Para que esta fase se inicie es necesario que haya un traumatismo en la propia sangre y contindar con la serie de reacciones en cascada, las cuales se ilustran en la figura 1, donde puede observarse la serie de etapas necesarias para que ocurra la formación de Tromboplastina Intrínseca.

El trauma que sufre la sangre altera dos factores importantes de la coagulación, el Factor XII y Plaquetas. Cuando el Factor XII se perturba, como ocurre cuando entra en contacto con la colágena o con una superficie mojabla como el vidrio, adopta una nueva configuración que lo convierte en una enzima proteolítica llamada Factor XII activado. Otro factor que sufre una alteración cuando hay un traumatismo en la sangre son las

SUP. EXTERNA (TRAUMATISMO
A LA SANGRE O CONTACTO CON
EL COLÁGENO)

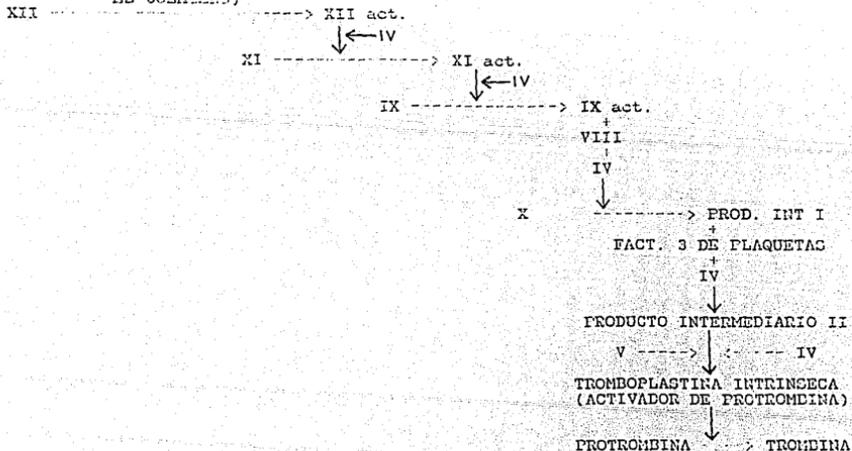


Fig 1. Mecanismo intrínseco de la coagulación sanguínea, también conocido como Fase IA.

plaquetas, a éstas se les llama Factor 3 de Plaquetas, ellas desempeñan una función en las reacciones posteriores de la coagulación.

El Factor XII activado junto con el calcio actúan sobre el Factor XI para activarlo y transformarlo en el complejo (HF+PTA), así mismo este complejo actúa sobre el Factor Christmas para alterar su estado zimógeno y convertirlo a estado activado, es necesario hacer notar que el calcio se encuentra en todas las etapas de conversión del estado zimógeno de los factores a su estado activado.

El Factor IX activado junto con el Factor VIII y el IV actúan sobre el Factor X para darnos el Producto Intermediario 1, cuando éste se ha formado reacciona con el Factor 3 de Plaquetas y el Calcio para formar el Producto Intermediario 2, el cual reacciona con el Factor Lábil y el Calcio para construir la Tromboplastina "Intrínseca" llamada también Activador de Protrombina. Es necesario hacer hincapió que en esta etapa una deficiencia en el Factor VIII produce una enfermedad conocida con el nombre de Hemofilia, de aquí la derivación del nombre de éste factor. Las plaquetas son el factor que falta en la trombocitopenia.

F A S E I B

A esta fase se le puede llamar mecanismo "Extrínseco", para que la fase se inicie es necesario que el tejido traumatizado libere el Factor Tisular (tromboplastina tisular), éste junto con la Proconvertina y el Calcio provocan que el Factor Stuart-Prower reaccione y forme la tromboplastina "Extrínseca, esto se explica en la figura 2.

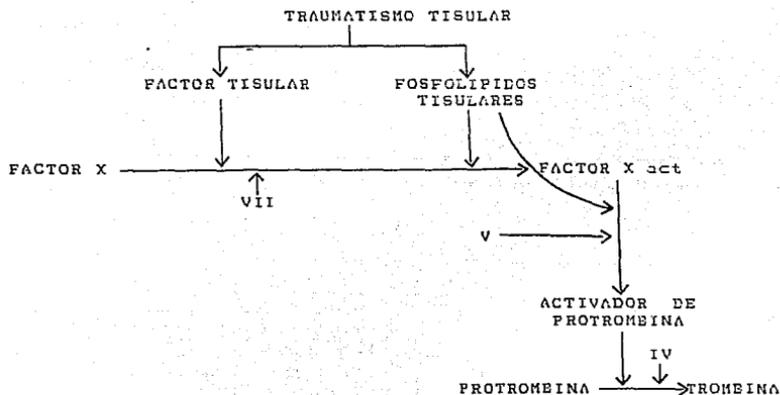


Fig 2.- Vía Extrínseca para iniciar la coagulación sanguínea.

F A S E I I y F A S E I I I

En la Fase II tanto la tromboplastina "Intrínseca" como la "Extrínseca" reaccionan con la Protrombina y la rompen para dejar libre la trombina, en este paso también interviene el calcio. En la Fase III la trombina reacciona con el Fibrinógeno y es hasta entonces cuando se forman los hilos de Fibrina junto con otros Fibrinopéptidos los cuales forman la red que ha de detener la hemorragia formando el coágulo.

FASE IV

En esta última fase ocurre la Disolución de la Fibrina, que se lleva a cabo por la acción de la Fibrinolisis (plasmina), una vez que el dano ha sido reparado y el coágulo debe desaparecer para permitir el libre paso de la sangre o el arreglo del tejido. Dentro de esta misma fase se observa que de acuerdo al esquema presentado hay una sustancia llamada activador, (esta puede ser alguna cinasa del tejido o de la sangre), como por ejemplo la urocinasa o la estreptocinasa, pero algunos investigadores postulan que una sustancia proactivadora también puede actuar en esta reacción(5,6).

COAGULANTES

Los agentes coagulantes pueden tener aplicación local, en el lugar que sangra, o bien, suministrarse con el fin de provocar efectos generales sobre la coagulación. Con respecto a esto último debe señalarse que la transfusión sanguínea constituye un agente coagulante y homeostático de primer orden en las enfermedades hemorrágicas donde falta algún elemento necesario para la coagulación, por ejemplo los factores V, VII, IX, X y protrombina en la "hipoprotrombinemia", plaquetas en la púrpura trombocitopenia, factor VIII o IX en la hemofilia (7). Otro agente eficaz es la vitamina K, en el caso especial de la "hipoprotrombinemia", lo mismo puede decirse de los agentes antiheparínicos con respecto a la heparina, en igual forma la administración de fibrinógeno está indicada en la afibrinogenemia. En resumen, los agentes coagulantes de acción general únicamente son eficientes si operan e corrigen la

deficiencia de algún factor de la coagulación (8).

En las hemorragias sin alteración de la coagulabilidad sanguínea o contractilidad vascular, como en el caso de lesiones traumáticas, quirúrgicas, amigdalectomía, úlcera gastroduodenal, hematemesis y tuberculosis pulmonar, se ha tratado de aumentar la coagulabilidad sanguínea mediante la administración por vía parenteral y aún bucal de ciertas sustancias, pero hasta el presente han resultado inoperantes(2,9) Se ha utilizado también CALCIO, pero es completamente ineficiente para modificar la coagulación sanguínea in vivo (2), la TROMBOPLASTINA y la TROMBINA utilizadas por vía parenteral (2), la PECTINA, carbohidrato que no modifica la coagulación y no es útil en los procesos hemorrágicos aún inyectada por vía intravenosa(10,3), el SALICILATO DE CATECÓLICO que es completamente ineficaz como agente antihemorrágico, demostrado por los estudios minuciosos de Dykes y Anderson(10), se han utilizado CIANOACRILATOS(12, 13, 14) pero han dado resultados desfavorables debido a que producen un gran daño tisular, la GELATINA para el caso específico de la hepatectomía del hombre no es posible utilizarla ni como esponja ni como solución inyectable(9).

El estudio de los agentes coagulantes comprende dos grupos los cuales son:

1.- COAGULANTES DE ACCION LOCAL o AGENTES HEMOSTATICOS propiamente dichos, que detienen la hemorragia inmediatamente en esta clasificación nos encontramos a las sustancias que se utilizan para provocar el cese de la hemorragia "in situ",

algunas corresponden a elementos naturales de la coagulación como la fibrina y la trombina en espuma; otras artificiales como la celulosa oxidada y la gelatina en esponja.

Los coagulantes locales ayudan a acelerar el proceso de la coagulación ya que actúan como una matriz de una "superficie extrana" ayudando así a formar más rápidamente el coágulo puesto que solamente llegan a depositarse las plaquetas en los poros que dejan cada una de estas sustancias, para el caso del agente coagulante (polimero G-R-F) su finalidad es también la misma la ventaja y con respecto a otros es que puede utilizarse en cualquier tipo de cirugía además su manipulación es mucho más fácil ya que no es necesario tener una superficie seca para ser aplicado y se absorbe en un lapso corto de tiempo sin necesidad de ser retirado(9), no necesita un proceso de esterilización posterior porque se sabe que el resorcinol y el formal son agentes que son bactericidas y por ello confieren esterilidad al producto(9). A diferencia de los cianoacrilatos la agresividad tisular disminuye considerablemente pero para que tenga una adhesividad adecuada también hay que tener en cuenta cuantas capas de este producto se deben aplicar y esto es parte de lo que no está definido según los estudios reportados(9, 15, 16).

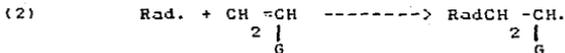
2.-COAGULANTES DE ACCION GENERAL, aquí se encuentran enmarcados la vitamina K, el fibrinógeno y los agentes antiheparínicos, de estos agentes no se entra en detalle ya que se mencionó que son eficaces solo cuando ayudan a corregir deficiencia de ellos pero que no aceleran el proceso de la coagulación.

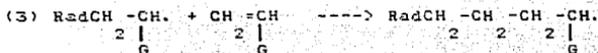
POLIMEROS Y POLIMERIZACION

Tanto las macromoléculas naturales, como las sintetizadas por métodos químicos, deben su gran tamaño al hecho de que son polímeras (Griego: muchas partes), es decir, cada una está formada por muchas unidades más simples -idénticas entre sí o al menos, químicamente parecidas- unidas en forma regular. Se forman por un proceso llamado polimerización, o sea la unión de varias moléculas pequeñas para generar otras muy grandes. Los compuestos simples que dan origen a los polímeros se denominan monómeros(16).

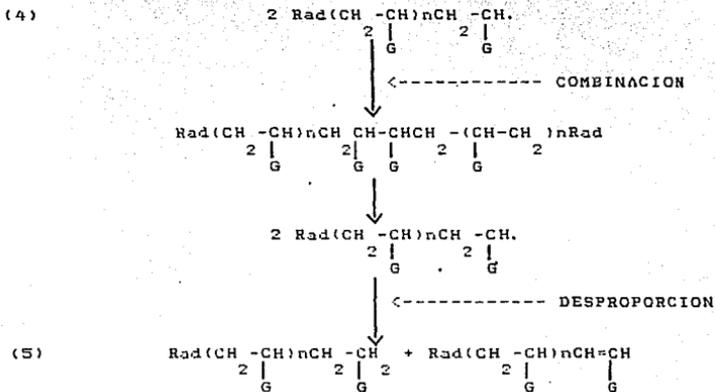
Los polímeros pueden ser obtenidos por dos métodos generales:

A).-POLIMERIZACION POR REACCION EN CADENA: en ella hay una serie de reacciones, cada una de las cuales consume una partícula reactiva y genera otra similar, de modo que cada reacción individual depende de otra previa. Las partículas reactivas pueden ser radicales libres, cationes o aniones en este caso las moléculas de monómero simplemente se juntan entre ellas, algunos químicos usan el término polimerización por adición debido a que casi todos los sistemas de polimerización por reacción en cadena son la mayoría por adición, como ejemplo se ilustra la reacción de un radical libre con una molécula que tiene un doble enlace:





Luego se repiten los pasos como en (3) hasta que finalmente:



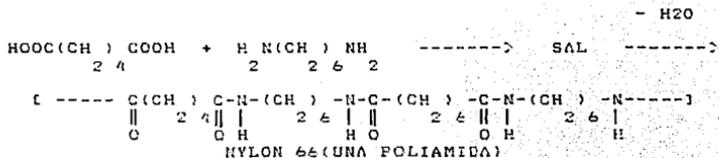
(4) y (5) son los pasos de terminación de la cadena.

La polimerización implica la adición de radicales libres al doble enlace del monómero; primero la adición del radical libre generado con el iniciador y luego la de la molécula creciente del polímero.

B).-POLIMERIZACION POR REACCION EN ETAPAS: en este tipo de polimerización las reacciones que se efectúan son por condensación debido a que las moléculas de monómero se combinan con pérdida de alguna molécula simple, como por ejemplo agua. En

este tipo hay una serie de reacciones cada una de las cuales son esencialmente independientes de las anteriores; es tan sencilla la forma en que el polímero se forma, debido a que el monómero reacciona con más de un grupo funcional; como por ejemplo un glicol reacciona con un ácido carboxílico para formar un éster; pero cada unidad de éster simple aún contiene un grupo funcional que puede reaccionar para generar otra unión éster y en consecuencia, la molécula se hace mas grande, ésta a su vez puede seguir reaccionando y así sucesivamente.

Los ácidos carboxílicos reaccionan con aminas produciendo amidas y con alcoholes para formar ésteres. Cuando un ácido que contiene mas de un grupo carboxílico reacciona con una amina con más de un grupo $-NH_2$, o con un alcohol con más de un grupo $-OH$ se obtienen poliamidas o poliésteres respectivamente. Como ejemplo se observa la formación del Nylon 66, una poliamida:



Estos y los que a continuación se ilustran son ejemplos de reacciones de polimerización por etapas. Si cada molécula de un monómero solo contiene dos grupos funcionales, el crecimiento sólo se puede efectuar en dos direcciones por lo que se obtiene un polímero lineal, como en el caso del Nylon 66 o el Dacrón (Fig 3). Si el monómero contiene más de dos grupos de reacción,

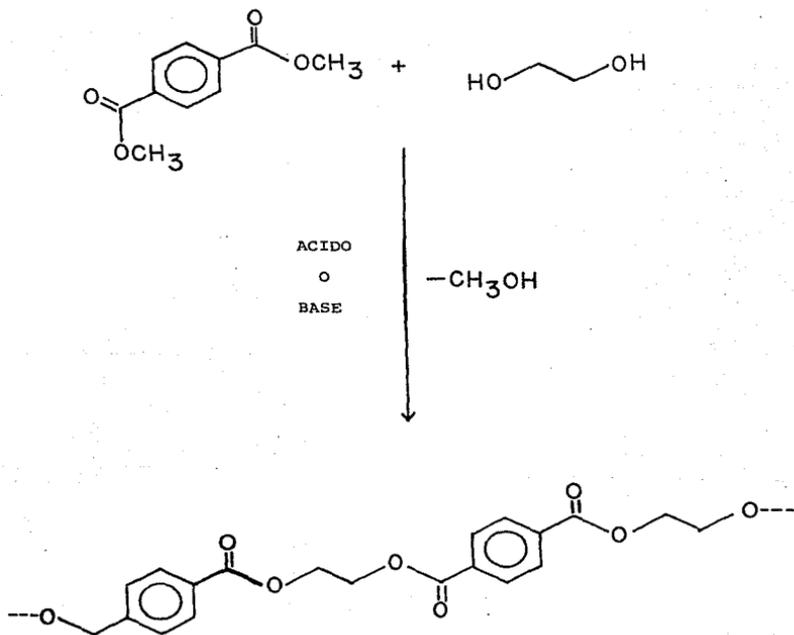


Fig 3. Etapas principales en la formación del Dacrón, un polímero obtenido de la reacción del tereftalato de metilo con el etilen glicol.

el polimero que resulta contendrá muchas uniones transversales, como el Gliptal, una resina alquídica. Tanto el Gliptal como el Dacrón son poliésteres, sin embargo sus estructuras y por tanto sus usos, son muy diferentes.

La polimerización por reacción en etapas puede comprender una amplia variedad de grupos funcionales y muchos tipos de reacción. Entre los polimeros sintéticos más antiguos se encuentran los que resultan de la reacción entre el fenol y el formaldehído, como son; las resinas fenol-formaldehído (bakelita y polimeros similares Fig 4). Cuando se mezcla fenol con formaldehído en presencia de álcali o de ácidos, se obtiene una sustancia de elevado peso molecular en la que se mantienen unidos muchos anillos fenólicos por grupos $-CH_2-$ (Fig 5), las etapas involucradas en la formación del polimero parecen ser las siguientes: primero reacciona el fenol con el formaldehído para generar el orto- ó p-hidroxifenol, que luego reacciona con otra molécula de fenol con pérdida de agua, con lo que resulta un compuesto con dos anillos unidos por un eslabón $-CH_2-$. El proceso continúa, resultando un producto de alto peso molecular. Puesto que hay tres posiciones susceptibles al ataque en cada molécula de fenol, el producto final contendrá muchas uniones transversales, por lo que adquiere una estructura rígida.

La primera etapa se puede describir como una sustitución electrofílica en el anillo por el carbono electrónicamente deficiente del formaldehído y como una adición nucleofílica del anillo aromático al grupo carbonilo. Un medio básico cataliza la reacción por conversión del fenol en el ión fenóxido, más reactivo (más nucleofílico), mientras que en medio ácido el

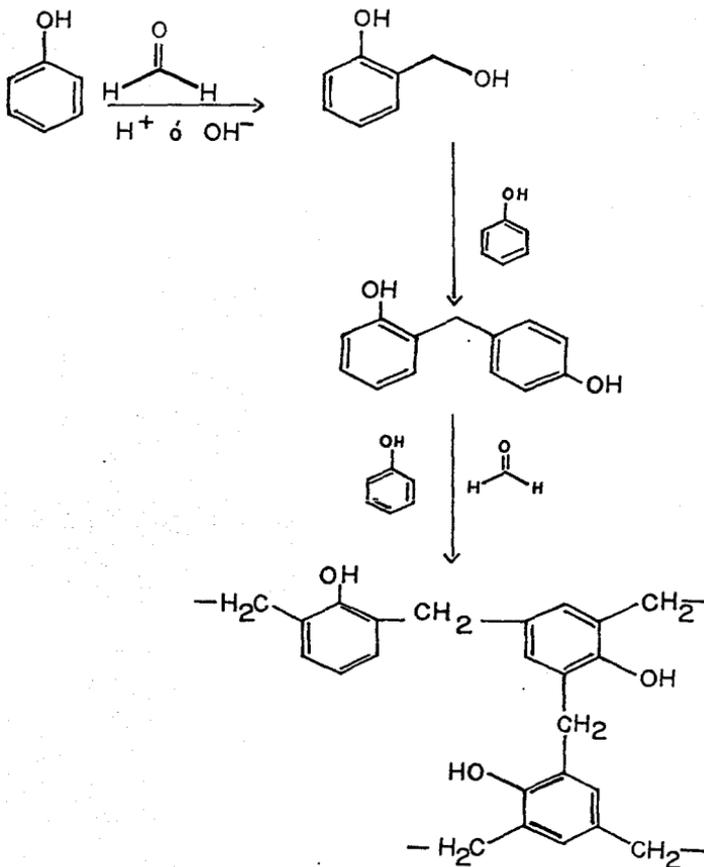


Fig 4. Principales etapas en el proceso de formación de la baquelita, un polímero obtenido de la reacción del fenol y el formaldehído en medio ácido ó básico. (Morrison & Boyd, 1980).

formaldehído se produce aumentando la electrones negativos del
 carbon carbonílico

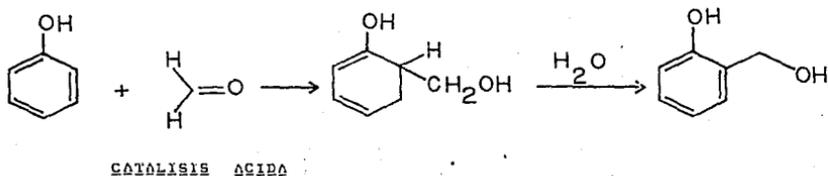
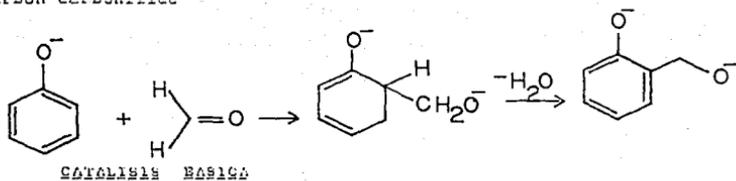


Fig.5.-Primera etapas de la catálisis ácida y básica en la
 reacción de fenol con el formaldehído

GENERALIDADES DE LAS MATERIA PRIMAS UTILIZADAS

R E S O R C I N O L

(1,3-benzenediol, 1,3-dihidroxi-benceno, m-dihidroxi-benceno)

Es un compuesto aromático con un débil olor, de sabor dulce y amargo. Se obtuvo por primera vez en 1864 por fusión alcalina de las resinas del galbanum y la asfetida; su nombre se deriva de la resina y el orcinol para indicar su origen y estructura análoga con el orcinol (5-metilresorcinol), (23, 24). Los usos importantes del resorcinol son en la producción de adhesivos para el caucho, almidón, neumáticos, maderas y para la preparación de colorantes, reveladores para u.v., y en farmacia.

El resorcinol es menos tóxico que el fenol. Estudios experimentales en humanos y animales han demostrado baja toxicidad o poca toxicidad crónica y una rápida excreción. No se ha observado efectos sistémicos por la exposición industrial. A continuación se dan los datos de seguridad en la tabla II.

TABLA II
DATOS DE SEGURIDAD DEL RESORCINOL

PROPIEDAD	VALOR
Valor de Umbral Límite (TLV) mg/m	45.0
LD 50 (oral en ratas) mg/kg	370.0
LD 50 (subcutáneo en ratón) mg/kg	450.0
LD (E. coli) mg/l	1000.0
LD (Daphnia) mg/l	0.8
LC (pezcaudo dorado, después de 48h)	57.4

El resorcinol puede ser excretado en estado libre y/o conjugado a ácidos. Los síntomas de intoxicación son los mismos a los producidos por el fenol: náuseas, vómitos, sensación de sofocación, incremento en la velocidad de respiración, vémitos, palidez, convulsiones, dolor de cabeza, disnea, diarreas, delirio y coma.

El resorcinol puede causar irritación en los ojos o inducir dermatitis, particularmente en individuos sensibles. La aplicación cutánea de resorcinol en solución ó pomada puede traer consigo hiperemia local, picazón, dermatitis, edema y la pérdida de las capas superficiales de la piel, el resorcinol induce una marcada siderosis del bazo, un marcado daño tubular en el riñón, cambio de las grasas del corazón y edema y epitema en los pulmones(23, 25).

G E L A T I N A

La gelatina tipo A y B, son obtenidas por la hidrólisis parcial de los componentes proteínicos del colágeno principalmente de la piel, huesos, cuero y tejido conectivo blando del cuerpo de los animales. El tipo A se obtiene por procesamiento ácido de los colágenos y tiene un punto isoeléctrico entre pH 7 - 9, en tanto que la gelatina tipo B se obtiene por el procesamiento alcalino e con cal y tiene un punto isoeléctrico entre pH 4.6 - 5.2. Mezclas de ambos tipos pueden exhibir puntos isoeléctricos fuera de estos intervalos(26). El producto de la hidrólisis se obtiene por extracción con agua caliente y no existe como tal en la naturaleza. La gelatina se utiliza en la industria de los alimentos, farmacéutica y

fotográfica, las cuales aprovechan las ventajas de sus propiedades, únicas, tales como la transición gel-solido de las soluciones acuosas, la viscosidad de las soluciones calientes, la capacidad de actuar como coloides protectivos, permeabilidad al agua, insolubilidad en agua fría y solubilidad en agua caliente.

La gran parte de la gelatina Tipo A que se obtiene de la piel de los cerdos se le llama gelatina normal, la fuente principal de la gelatina Tipo B es obtenida de huesos y piel de vacas y reses y se le denomina gelatina retal(27, 28, 29). Los últimos nombres para las gelatinas son los utilizados en este trabajo.

FORMALDEHIDO

El formaldehído es el primero de la serie de los aldehídos alifáticos. La producción anual mundial excede de 12000000 toneladas (calculado como solución al 37%). Su costo es relativamente bajo, su pureza alta y por la gran variedad de sus reacciones químicas el formaldehído ha empezado a ser uno de los más importantes en el mundo tanto en la industria como en la investigación(30).

En la tabla III se muestran los datos de salud y seguridad(31, 32). Para el formaldehído su potencial carcinogénico no se ha determinado y los resultados de varios estudios difieren entre sí(32,33,34). Se han observado efectos carcinogénicos en varios organismos como E.coli y varios virus (36) pero no en animales(37) y se piensa que el formaldehído no tiene actividad teratogénica en animales(38).

TABLA III
FACTORES DE SALUD Y SEGURIDAD PARA LAS
CONCENTRACIONES DE FORMALDEHIDO

PROPIEDAD	VALOR
Límites de exposición	
8 h tiempo promedio en peso ppm	3
Altura Máxima(techo) ppm	5
Niveles mínimos para la detección sensorial	
Olor detectable en ppm	1
Olor detectable en agua en mg/l	20-50
Lagrimación elevada	20
Irritación en los ojos	0.05-0.5

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En las investigaciones efectuadas para la selección de un buen agente hemostático que fuese efectivo en los distintos tipos de cirugías, se encontró entre ellos que la gelatina da buenos resultados pero no es posible utilizarla en forma de esponja ni de solución en las diferentes cirugías (como la hepatectomía derecha del hombre), por existir problemas en su manipulación y poder hemostático. En otros estudios (15,16) se encontró que si se polimeriza con resorcinol y una solución de formaldehído se obtiene un compuesto con buenas características de adhesividad(16), que se elimina del organismo poco a poco, sin embargo se presentan varios problemas:

El polímero se descompone gradualmente al transcurrir el tiempo por lo que la formulación debe ser preparada momentos antes de su uso.

La esterilidad del producto no se determina porque se considera que tanto el resorcinol como el formaldehído se usan como agentes bactericidas y se supone que no habrá crecimiento microbiano(8).

No existe reportado un procedimiento de fabricación definido que pueda garantizar que el polímero tenga adhesividad.

El compuesto presenta una agresividad tisular muy grande, provocando necrosis hasta de cuatro capas de tejido en donde se aplica(9).

La preparación defectuosa puede provocar la muerte si el polímero no tiene el efecto coagulante adecuado, y en otras ocasiones si no tiene la adhesividad suficiente, finalmente se encontró que la hemostasia depende del número de capas que se

aplican sobre la superficie de tejidos(9).

El polímero Gelatina-Resorcinci-Formol presenta algunas ventajas con respecto a otros coagulantes, ya que puede ser utilizado en cualquier tipo de cirugía, principalmente la de órganos como riñón, bazo, y el hígado, que son partes del cuerpo en donde es difícil obtener una hemóstasis efectiva simplemente con el uso de las suturas, no necesita condiciones especiales de fabricación, las materias primas utilizadas son de bajo costo, lo que se considera ventajoso para el uso clínico del producto.

Por lo tanto, en este estudio se trata de obtener un compuesto de forma tal que tenga adhesividad sobre el área en la cual se va a aplicar, que sea un coagulante rápido, para detener la hemorragia casi inmediatamente después de ser aplicado y que pueda ser eliminado poco a poco además de ser no tóxico para el organismo. Se pretende establecer un proceso de fabricación y control del polímero.

O B J E T I V O

ESTABLECER EL PROCESO DE FABRICACION DE UN POLIMERO
DE GELATINA-RESORCINOL-FORMOL ADECUADO PARA SU USO
EN CLINICA MEDIANTE EL ESTUDIO DE SU FORMULACION Y
CARACTERISTICAS DE CALIDAD.

H I P O T E S I S

LA FORMULACION DEL PÓLIMERO GELATINA-RESORCINOL-FORMOL
SATISFACERA LOS PARAMENTROS DE CALIDAD NECESARIOS
(ESTERILIDAD, PODER ADHESIVO Y. ESTABILIDAD)
PARA QUE EL PRODUCTO PUEDA SER
USADO EN CLINICA.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Debido a las características del proceso y las diferentes condiciones de producción que se requieren se usará un diseño experimental tipo factorial (tabla II), ya que este permite manejar diversos factores y sus interacciones entre sí sobre las variables de respuesta seleccionadas para describir el comportamiento del proceso, lo que nos proporcionará los parámetros necesarios para la obtención del proceso de fabricación más adecuado. En la tabla IV se muestra la matriz experimental con el número de tratamientos utilizados para la experimentación. Como puede observarse en la matriz experimental las variables de respuesta que se van a manejar son temperatura velocidad de agitación y antioxidante ya que se ha encontrado que estas pueden dar una mayor variación en la obtención del polímero.

El modelo estadístico que se aplica al diseño experimental anterior es el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \alpha\beta_{ij} + \alpha\gamma_{ik} + \beta\gamma_{jk} + \alpha\beta\gamma_{ijk} + E_{l(ijk)}$$

Donde:

- μ = Media poblacional o gran media
- A_i = Antioxidante (ácido cítrico)
- 0 = Sin antioxidante
- 1 = Antioxidante al final del proceso
- V_j = Velocidad de agitación (agitación mecánica mediante caframo).
- 1 = Agitación manual
- 2 = 40 rpm.
- 3 = 60 rpm.
- 4 = 80 rpm
- T_k = Temperatura de calentamiento
- 1 = 40°C
- 2 = 45
- 3 = 50
- 4 = 55
- AV_{ij} = Interacción debida al antioxidante y a la velocidad de agitación.
- AT_{ik} = Interacción debida al antioxidante y a la temperatura.
- VT_{jk} = Interacción entre la velocidad y la temperatura.
- AVT_{ijk} = Interacción entre la velocidad de agitación, antioxidante y temperatura.
- E_{l(ijk)} = Error experimental.
- l = número de repeticiones (l = 1, 2).

TABLA IV
MATRIZ EXPERIMENTAL Y NUMERO DE TRATAMIENTOS

		SIN ANTIOXIDANTE				ANTIOXIDANTE 0.5%			
		VELOCIDAD DE AGITACION(rpm)				VELOCIDAD DE AGITACION(rpm)			
		A.M.	40	60	80	A.M.	40	60	80
T	40	1	2	3	4	5	6	7	8
E									
M	45	9	10	11	12	13	14	15	16
P									
E									
R	50	17	18	19	20	21	22	23	24
A									
T									
U	55	25	26	27	28	29	30	31	32
R									
A									

Cada número en las celdas representa un tratamiento. Los tratamientos se asignan aleatoriamente a las unidades experimentales para obtener un diseño factorial completamente al azar. La temperatura está dada en grados centígrados. Las abreviaturas rpm y A.M. significan revoluciones por minuto y agitación manual respectivamente.

M A T E R I A L Y E Q U I P O

Tubos de ensayo	Agitador mecánico de propela (Cafranc)
Pinzas para bureta	
Papel ostraiza	Parrilla de Calentamiento
Papel Glassine	Equipo de Esterilidad (Millipore)
Jeringas de 5 y 10 ml	Autoclave
Bano Maria	Refractómetro Abbé
Papel Filtro	Frascos ámbar con tapa de aluminio de 45 ml
Probetas de 25 y 50 ml	
Mecheros Bunsen	Etiquetas
Gradilla	Membranas de 0.45 mc. tipo HA milipore.
Vaso de acero inoxidable de 500 y 1000 ml.	
Vasos de precipitado de 100 y 250 ml.	
Soportes universales	
Espátulas	
Algodón	
Bureta de 50 ml	
Gasa	
Pinzas	
Pipetas graduadas de 5 y 10 ml.	

REACTIVOS

SOLUCIONES VOLUMETRICAS

Solución 0.1N de Bromato de Potasio
Solución 0.1N de Tiosulfato de Sodio

SOLUCIONES INDICADORAS

Almidón

REACTIVOS

Acido Clorhídrico G.R. (Merck)
Bromuro de Potasio G.R. (Merck)
Caldo Soya Tripticasa (Bioxon)
Formaldehido G.R. (Merck)
Gelatina Normal y Retal G.F.
Hidróxido de Sodio G.R. (Merck)
Ioduro de Potasio G.R. (Merck)
Medio Fluido de Triaclicolato (Bioxon)
Resorcinol G. Técnico (Koppers)

METODOLOGIA

PROCESO DE PRODUCCION

Pesar 15 g de gelatina (retal o normal) en polvo y pasarla a un vaso de acero inoxidable de 250 ml. Adicionar 5 g de resorcinol disuelto en 25 ml de agua, colocar en un Baño María a la temperatura T_k , agitando a la velocidad V_j durante 15 minutos, según el tratamiento correspondiente.

Adicionar 1 ml de una solución de ácido cítrico al 0.5% p/v y continuar la agitación por 2 minutos más. (Al efectuar los tratamientos que no llevan ácido cítrico se substituye con la adición de éste por 1 ml de agua). Guardar el producto en frascos ámbar protegidos de la luz y en un lugar fresco.

INDICE DE REFRACCION

Pasar una gota de muestra y determinar su índice de refracción con el Refractómetro de Abbé con la línea D de sodio.

CONTENIDO DE RESORCINOL

Pesar en un matríz de yodo aproximadamente 450 mg de muestra usando para ello un jeringa sin aguja.

Disolver con 25 ml de agua y adicionar 50 ml de solución 0.1N de bromato de potasio 0.1 N y 500 mg de bromuro de potasio, agitar la mezcla. Adicionar 5 ml de ácido clorhídrico concentrado tapar rápidamente y agitar fuertemente, reposar la mezcla durante 15 minutos protegida de la luz. Adicionar 2 g de yoduro de potasio agitando para disolver y reposar durante 5 minutos más. Titular con una solución 0.1 N de tiosulfato de sodio usando una solución de almidón como indicador interno.

ESTERILIDAD

Tomar 10 ml de muestra en condiciones estériles y colocar 1 ml de la muestra en el equipo de filtración por membrana y lavar la muestra con 100 ml de solución peptonada al 0.9%, después de efectuar esta operación se practica un segundo lavado con otros 100 ml de solución peptonada. Desmontar el aparato y partir la membrana por la mitad, una de esta se coloca en medio digerido de caseína soya y la otra en medio fluido de tioglicolato. La operación se efectúa con cada uno de los 9 ml restantes de la solución. Los tubos se incuban por un período mínimo de 14 días. Los tubos que contienen fluido de tioglicolato se incuban a una temperatura de 37°C y los que contienen medio de caseína soya se incuban a temperatura ambiente. Las observaciones se efectúan diario para observar el crecimiento microbiano. Se corren al mismo tiempo un blanco testigo de esterilidad y un blanco de crecimiento para saber si el medio de cultivo favorece el crecimiento de los microorganismos.

ADHESIVIDAD

Se cortan fragmentos de hígado de res fresco y se realizan 6 incisiones de 4 cm de longitud y de 0.5 cm de profundidad con un bisturí.

Tomar aproximadamente 0.5 ml del producto con una espátula y aplicar 1, 2, 3, y 4 capas en las incisiones de la 1-4 respectivamente.

En la quinta se aplica únicamente formaldehído por aspersión y en la sexta no se aplica nada. Dejar secar 2 minutos y aplicar el formaldehído por aspersión en cada una de las

inicciones excepto en la última.

Después de 2 minutos se inspecciona cada una de las insicciones y se observa en cual el producto cierra la insicción primero mediante observación visual y después efectuando un corte paralelo al de cada una de las heridas para ver si estas también están cerradas por dentro.

ESTABILIDAD FISICA

Registrar las observaciones visuales de los polímeros obtenidos en cada uno de los tratamientos y tomarlas como referencia de las observaciones posteriores que se efectúan a los 15, 30, 60 y 90 días, observando si hay oscurecimiento del producto.

NOTA: para cada uno de los tratamientos efectuados con la gelatina normal la toma de muestra se hace después de calentarla en un baño maría a una temperatura que no exceda de la usada para su fabricación.

RESULTADOS

De las observaciones efectuadas durante el desarrollo de los experimentos se encontró, que con la GELATINA NORMAL el polimero obtenido en los diferentes tratamientos se solidifica al tomar éste la temperatura ambiente con una apariencia sólida de color blanco opaco, que permaneció constante, aún después de 4-6 meses de su preparación. Para el propósito que se fijó en los objetivos esto resulta adverso, puesto que se desea obtener un polimero que sea líquido para tener una mayor facilidad al manipularlo. Sin embargo, se continuó efectuando todas las pruebas para ver si había algún cambio y también para comparar los resultados de este tipo de gelatina con los que se obtubieron con la Retal.

Los resultados obtenidos con la Gelatina Retal son más favorables puesto que todos los polimeros obtenidos con ella tienen apariencia líquida y constante aún después de 4-6 meses de la preparación del producto.

A primera vista podría haberse seleccionado la gelatina que nos había dado el producto líquido pero como no se sabía qué resultados daría al efectuar todas las pruebas y el análisis estadístico de los datos no se tenía la plena seguridad para la elección correcta, por lo que aparte de las observaciones visuales se midió el índice de refracción, el porcentaje de resorcionel residual, y se efectuaron las pruebas de esterilidad, estos resultados se muestran a continuación.

En la tabla V se muestran los resultados obtenidos para el efecto de la velocidad de agitación y temperatura en el índice de refracción con y sin antioxidante para la gelatina normal.

TABLA V

EFFECTO DE LA TEMPERATURA, VELOCIDAD DE AGITACION
Y ANTIOXIDANTE EN EL INDICE DE REFRACCION
DEL POLIMERO GELATINA NORMAL/RESORCINOL

Ac. Cit. (%)	T°C	VELOCIDAD DE AGITACION(RPM)			
		Manual	40	60	80
0.05	40	145.0	140.5	144.0	94.0
	45	113.5	139.5	160.5	137.5
	50	164.0	134.0	182.5	144.0
	55	163.0	155.0	134.5	222.5
0	40	177.0	134.0	170.0	128.7
	45	136.0	122.0	168.5	151.5
	50	160.5	184.0	164.0	171.0
	55	153.0	154.5	132.0	182.0

Los datos de las celdas representan el promedio de dos observaciones. Ac. Cit., ácido cítrico; RPM, revoluciones por minuto; Manual, agitación manual.

TABLA VI

TABLA ANAVA DEL INDICE DE REFRACCION DEL POLIMERO
 GELATINA NORMAL/RESORCINOL EN FUNCION
 DE LA TEMPERATURA, VELOCIDAD
 DE AGITACION Y PRESENCIA
 DE ANTIOXIDANTE

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	G. L.	M. C.	F cal.	F teor. 0.10
O	819.39	1	819.39	0.4886	2.88
i					
V	1149.17	3	383.06	0.2284	2.28
j					
T	7170.42	3	2390.14	1.4254	2.28
k					
OV	111.92	3	37.31	0.0223	2.28
ij					
OT	2683.67	3	894.56	0.5335	2.28
ik					
VT	19467.52	9	2163.06	1.2899	1.85
jk					
OVT	5720.26	9	635.85	0.3792	1.85
ijk					
E	53658.50	32	1674.02		
l(ijk)					
TOTAL	90780.86	63	1440.97		

G. L. Grados de libertad; M. C., Media de cuadrados; F cal., F calculada; F teor., F teórica con un nivel de significancia del 0.1; O, antioxidante; V, velocidad de agitación; T, temperatura con ijk niveles; OV, OT, VT, dcbles y OVT, triple interacciones entre los factores. E, error experimental.

Como puede observarse, hay una gran variabilidad en los datos y a simple vista se vé que hay interacciones entre las variables pero para saber cual de estas produce un mayor efecto en la formulación se procedió a efectuar un análisis de varianza. Para determinar el efecto de las variables o factores usados se calculó una F y se comparó con una F teórica con un nivel del 0.1 de significancia.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis estadístico de los datos del índice de refracción en función de la temperatura y la velocidad de agitación para la gelatina normal con y sin antioxidante mostrados en la tabla VI encontramos que no hay efecto de cada una de las variables, ni para la doble ni la triple interacción entre ellas, puesto que la F calculada es menor que la F teórica propuesta para efectuar la comparación de los datos. Esto nos lleva a decir que si este tipo de gelatina la trabajamos en un intervalo de temperatura de 40-55 grados centigrados y con una velocidad de agitación de 40 - 80 revoluciones por minuto, ó aún usando una velocidad manual obtendremos un polimero de las mismas características puesto que el índice de refracción indica el grado de polimerización de la mezcla obtenida y en este caso está diciendo que es el mismo en todos los tratamientos y que el producto será semejante mientras se trabaje dentro de estos intervalos, además en este caso no es necesario adicionar el antioxidante puesto que aparte de no tener efecto en la formación del polimero este no presenta rasgos de oscurecimiento aún después de 6 meses de haberse fabricado. Por lo tanto, hasta aquí puede concluirse que este tipo de gelatina produce un polimero estable que no se oxida con el tiempo pero

TABLA VII

EFFECTO DE LA TEMPERATURA, VELOCIDAD DE AGITACION
Y ANTIOXIDANTE SOBRE EL PORCENTAJE DE RESORCINOL
NO REACCIONANTE EN LA FORMACION DEL
POLIMERO GELATINA NORMAL/
RESORCINOL

Ac. Cit. (%)	T °C	VELOCIDAD DE AGITACION (RPM)			
		Manual	40	60	80
0.05	40	10.75	13.22	10.19	10.98
	45	11.73	12.92	7.99	10.29
	50	10.27	11.59	10.74	10.00
	55	9.89	11.15	10.08	11.96
0	40	13.00	11.74	12.81	10.83
	45	12.05	10.22	11.89	10.34
	50	10.71	12.54	11.00	11.51
	55	12.91	9.68	10.57	12.62

Los datos de las celdas son el promedio de dos observaciones. R.P.M., revoluciones por minuto; Manual, agitación manual.

TABLA VIII

TABLA ANAVA DEL PORCIENTO DE RESORCINOL NO REACCIONANTE
 EN LA FORMACION DEL POLIMERO GELATINA NORMAL/RESORCINOL
 EN FUNCION DE LA VELOCIDAD DE AGITACION,
 TEMPERATURA Y ANTIOXIDANTE

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	G. L.	M. C.	Fcal.	Fteor. 0.10
O i	5.95238	1	5.95238	2.240	2.88
V j	6.59229	3	2.19743	0.8271	2.28
T k	4.82952	3	1.60984	0.6059	2.28
OV ij	17.84665	3	5.94888	2.2390	2.28
VT ik	23.53403	9	2.61489	0.9842	1.85
OT jk	1.11465	3	0.37155	0.1398	2.28
OVT ijk	25.22987	9	2.80332	1.0550	1.85
E l(ijk)	85.02138	32	2.65692		
TOTAL	172.12076	63	2.73208		

G. L., Grados de libertad; M. C., media de cuadrados; Fcal., F calculada; Fteor., F teórica con un nivel de significancia de 0.1; O, antioxidante; T, temperatura; i, j, k, niveles utilizados; OV, OT, VT., dobles y OVT, triples interacciones entre los factores. E, error experimental.

que tiene la desventaja de solidificar temperatura ambiente; esto es un problema crítico para su uso y aplicación.

En la tabla VII se muestra el efecto de la velocidad y la temperatura en el porcentaje de resorcinol no reaccionante con y sin antioxidante para la gelatina normal. Como puede observarse los resultados obtenidos son uniformes y al igual que en el caso anterior se procedió a evaluarlos mediante un análisis de varianza el cual se muestra en la tabla VIII. Se encontró como en el caso anterior, que no hay ningún efecto de las variables en el proceso de fabricación y que siempre que se trabaje dentro de estos intervalos obtendremos un porcentaje de resorcinol no reaccionante semejante. Estos resultados servirán para evaluar la esterilidad del producto puesto que el resorcinol en este caso actúa como un agente bactericida ayudando así a mantener el producto en condiciones estériles.

En la tabla IX se muestra el efecto de la velocidad de agitación y la temperatura en el índice de refracción con y sin antioxidante para la Gelatina Retal, como podrá observarse hay variabilidad en los datos siendo ésta más notoria que en el tipo de gelatina normal. Para la evaluación más real de los datos se procede a efectuar un análisis de varianza el cual se muestra en la tabla X y en este caso obtenemos que no hay efecto por antioxidante puesto que la F calculada es menor a la teórica para este factor lo cual no sucede con la velocidad de agitación y con la temperatura que ejercen un efecto significativo en el proceso de fabricación, ya sea en forma individual o por interacción de ambas así como por la triple interacción, por tanto, en este caso el proceso está afectado por las variables evaluadas y ello

TABLA IX

EFFECTO DE LA VELOCIDAD DE AGITACION, TEMPERATURA
Y ANTIOXIDANTE EN EL INDICE DE REFRACCION
DEL POLIMERO GELATINA RETAL/RESORCINOL

Ac. Cit.	T °C	VELOCIDAD DE AGITACION (RPM)			
		Manual	40	60	80
0.05	40	125.0	110.0	114.5	96.0
	45	106.0	59.5	191.5	74.5
	50	113.5	22.5	175.0	123.5
	55	105.0	140.0	124.5	207.0
0	40	146.0	101.5	96.0	111.5
	45	87.0	85.5	153.0	161.0
	50	94.5	126.0	149.5	137.0
	55	128.5	225.0	164.0	157.5

Los datos representan el promedio de dos observaciones.
RPM, revoluciones por minuto; Ac. cit. ácido cítrico.

TABLA X

TABLA ANAVA DEL INDICE DE REFRACCION DEL POLIMERO
 GELATINA RETAL/RESORCINOL EN FUNCION
 DE LA VELOCIDAD DE AGITACION,
 TEMPERATURA Y ANTIOXIDANTE

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	G.L.	M.C.	F cal.	F teor. 0.10
O	1711.891	1	1711.891	1.4778	2.88
i					
V	13300.672	3	4433.557	3.8272	2.28
j					
T	25318.297	3	8439.432	7.2853	2.28
k					
OV	6103.922	3	2034.641	1.7564	2.28
ij					
OT	5831.672	3	1943.891	1.6781	2.28
ik					
VT	46537.891	9	5170.877	4.4637	1.85
jk					
OTV	23873.266	9	2652.585	2.2898	1.85
ijk					
E	37069.500	32	1158.422		
l(ijk)					
TOTAL	159747.109	63	2535.668		

G.L. grados de libertad; M.C. media de cuadrados; F cal., F calculada, F teor., F teórica; O, antioxidante; V, velocidad de agitación; T temperatura; i, j, k, niveles utilizados para los factores O, V, y T respectivamente; OV, OT, VT dobles y OVT, triple interacciones entre los factores. E, error experimental.

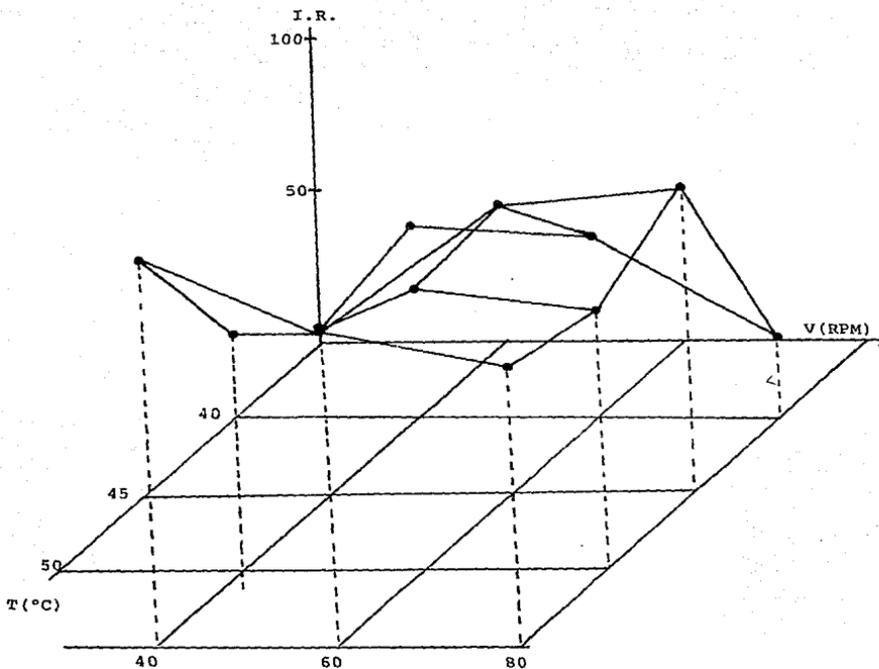


Fig 6. Representación gráfica del índice de refracción (IR) del polímero obtenido con la gelatina retal sin anti-oxidante. T(°C) = temperatura en grados centígrados; - V(RPM), velocidad de agitación en revoluciones por minuto. Cada punto representa el promedio de dos determinaciones.

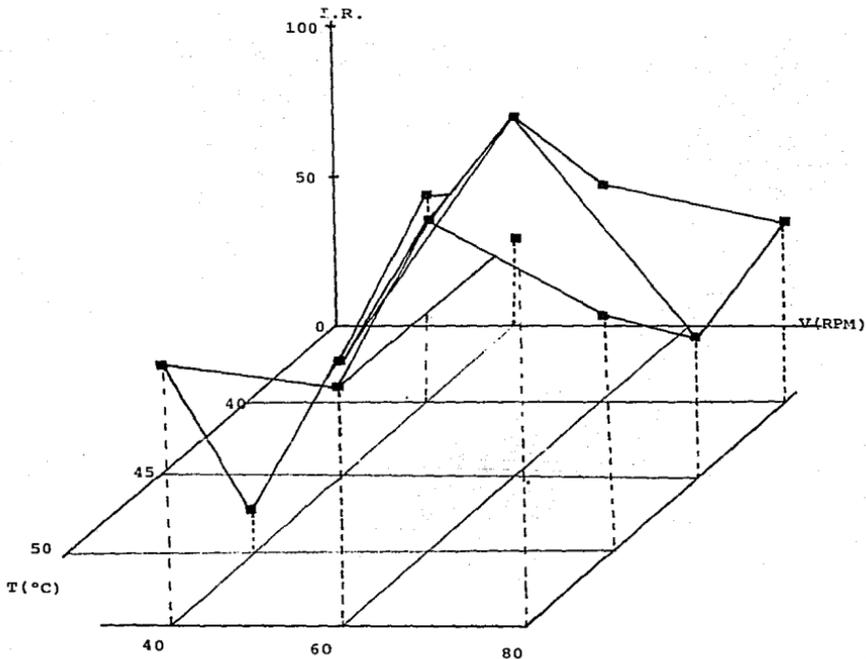


Fig 7. Representación gráfica del índice de refracción (IR) del polímero obtenido con la gelatina retal y ácido cítrico al 0.05% como antioxidante. T(°C) = temperatura en grados centígrados; V(RPM), velocidad de agitación en revoluciones por minuto. Cada punto representa el promedio de dos determinaciones.

indica que no se puede usar cualquier temperatura o velocidad de agitación porque los resultados no serían los mismos.

Para saber cuales podrían ser los mejores procesos de fabricación se procede a hacer representaciones gráficas de los datos obtenidos encontrándose lo siguiente: en la Figura 6 en donde esta la representación grafica para la gelatina retal sin antioxidante y en donde la variable de respuesta graficada es el indice de refracción se observa que al aumentar la velocidad de agitación aumenta el indice de refracción hasta un nivel en el que tiende a permanecer constante, por otra parte al aumentar la temperatura la tendencia es a aumentar el indice de refracción hasta un máximo y luego empezar a disminuir, como se puede observar los valores máximos relativos se van a encontrar en un intervalo de velocidad de agitación de 60-80 r.p.m. y a una temperatura de 45°C, condiciones bajo las cuales se obtendrá un mayor grado de polimerización y por lo tanto un producto con menos grupos reactivos libres y por ende menos antigénicos, menos tóxico, químicamente más estable, y por tanto menos riesgo para su uso en clínica. Para la gráfica del indice de refracción con antioxidante la cual es mostrada en la fig.7 se puede observar que al igual que en la anterior se sigue la misma tendencia sólo que aquí las condiciones más favorables son 60 r.p.m. y 45°C.

Comparando los resultados obtenidos mediante la agitación manual son en general menos favorables puesto que estos son más bajos con respecto al intervalo encontrado para el indice de refracción, esto nos da una gran ventaja porque indica que esta puede deberse al efecto que ejerce la persona que efectúa la agitación, y esto se evita al usar un aparato ya que aquí se

TABLA XI

EFFECTO DE LA VELOCIDAD DE AGITACION, TEMPERATURA Y ANTIOXIDANTE
 SOBRE EL PORCIENTO DE RESORCINOL NO REACCIONANTE
 EN EL PROCESO DE FABRICACION DEL POLINERO
 GELATINA RETAL/RESORCINOL

Ac. Cit. (%)	T°C	VELOCIDAD DE AGITACION(RPM)			
		Manual	40	60	80
0.05	40	7.92	12.78	11.86	12.07
	45	11.02	11.71	14.05	14.00
	50	12.80	12.03	12.75	12.02
	55	12.01	11.62	11.47	15.04
0	40	12.45	10.38	10.68	11.28
	45	11.36	9.80	12.94	11.11
	50	8.35	12.08	12.82	14.83
	55	12.18	11.49	11.76	11.63

Los datos representan el promedio de dos observaciones.
 Ac. Cit; ácido cítrico; T, temperatura; RPM, revoluciones por
 minuto. Manual, agitación manual.

TABLA XII

TABLA ANAVA DEL PORCIENTO DE RESORCINOL NO REACCIONANTE
 EN EL PROCESO DE FABRICACION DEL POLIMERO
 GELATINA RETAL/RESORCINOL EN FUNCION
 DE LA VELOCIDAD DE AGITACION,
 TEMPERATURA Y ANTIOXIDANTE

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	G.L.	M.C.	F cal.	F teor
O	6.27816	1	6.27816	3.1293	2.88
i					
V	29.36057	3	9.78686	4.8782	2.28
j					
T	11.02275	3	3.67425	1.8314	2.28
k					
OV	4.13757	3	1.37919	0.6875	2.28
i j					
OT	4.42538	3	1.47513	0.7353	2.28
i k					
VT	21.51691	9	2.29077	1.1967	1.85
j k					
OVT	66.35248	9	7.37250	3.6748	1.85
i j k					
E	64.19925	32	2.00622		
l(ijk)					
TOTAL	207.29307	63	3.29057		

G.L. grados de libertad; M.C., media de cuadrados; F cal F calculada; F teor., F teórica con un nivel de significancia de 0.1; O, antioxidante; V, velocidad de agitación; T, temperatura; i, j, k niveles de variación de los factores O, V y T respectivamente; OV, OT y VT, dobles y OVT, triple interacciones entre los factores. E, error experimental.

pueden mantener las condiciones mas constantes.

Continuando con el análisis de los resultados en la tabla XI se muestran los resultados obtenidos con la gelatina retal pero con el porcentaje de resorcinol no reaccionante. En ella se puede observar que tambien hay variabilidad en los datos y que de acuerdo al análisis estadístico de los mismos, que se muestra en la tabla XII se encuentra que si hay efecto por el antioxidante, la velocidad de agitación y la triple interacción de los factores. Esto indica que se tiene que tener cuidado al elegir la mejor o mejores condiciones de proceso debido a que se podría escoger una que no fuera adecuada. Para tratar de eliminar este posible error se procedió a efectuar las representaciones gráficas de los datos obtenidos, encontrándose los siguientes resultados: de la fig. 8, en la que se graficó la gelatina con antioxidante, se encontró que la gráfica presenta una meseta muy uniforme en donde es difícil observar puntos máximos. Para la gelatina sin antioxidante, la cual se muestra en la fig. 9, se encontró algo semejante por lo tanto para los resultados obtenidos con el porcentaje de resorcinol no reaccionante puede observarse que de acuerdo al análisis estadístico hay diferencias significativas con respecto a las variables individuales como son el antioxidante y la velocidad de agitación y la triple interacción de las mismas. En las figs. 8 y 9 se puede ver que esta variación no es tan marcada puesto que dan unas superficies muy uniformes y no es posible hacer una elección muy acertada, por lo que para ésta se usa el índice de refracción que es un indicador mucho sensible que el porcentaje de resorcinol no reaccionante según se puede observar.

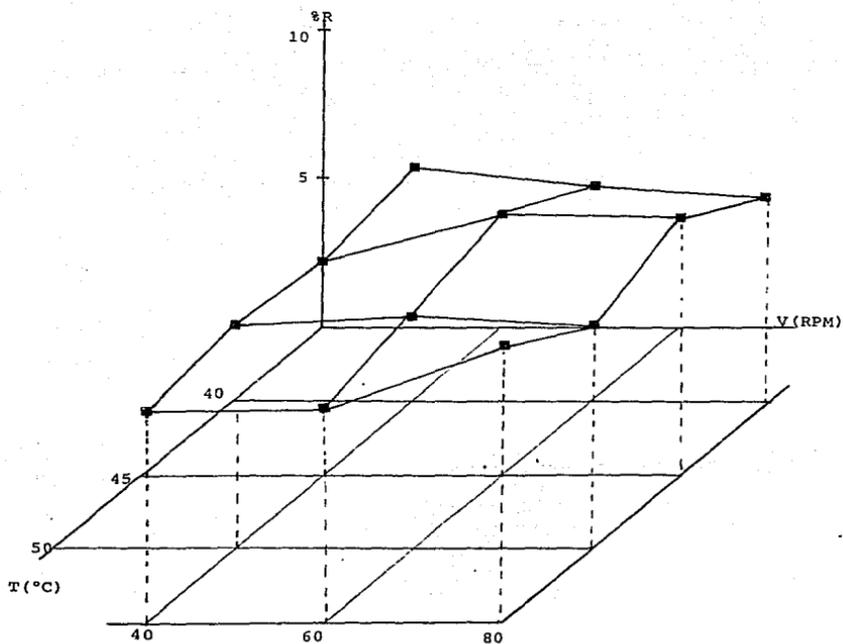


Fig 8. Representación gráfica del porcentaje de resorcinol (%R) no reaccionante en la fabricación del polímero con la gelatina retal y con antioxidante. T(°C) = -- temperatura en grados centígrados; V(RPM) = velocidad de agitación en revoluciones por minuto.

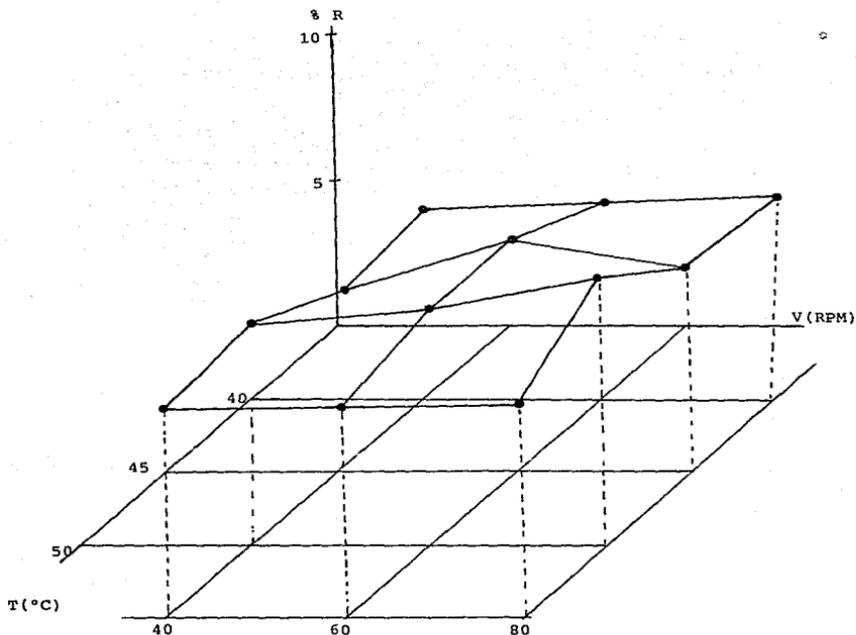


Fig 9. Representación gráfica del porcentaje de resorcinol (% R) no reaccionante en la fabricación del polímero con la gelatina retal sin antioxidante. T(°C) = temperatura en grados centígrados; V(RPM), velocidad de agitación en revoluciones por minuto. Cada punto representa el promedio de dos determinaciones.

ESTERILIDAD DEL POLIMERO GELATINA-RESORCINOL

Los resultados de esterilidad del producto se encuentran enmarcados en la Tabla XIII. Al mismo tiempo que se efectuó la prueba se realizó una verificación del medio de cultivo que se utilizó en la misma, y que consistió en que del total del medio preparado se tomaron tubos que contenían caldo soya tripticasa y medio de tioglicolato a los cuales se los contaminó con un microorganismo y a otros dos tubos de cada uno de los medios se les tomó como tubos testigos, y se incubaron con toda la serie de tubos prueba y se hicieron las observaciones correspondientes.

TABLA XIII ESTERILIDAD DEL POLIMERO G-R

TIPO DE GELATINA	No. DE TRATAMIENTO	C R E C I M I E N T O					
		TUBOS TESTIGO		TUBOS INOCULADOS		TUBOS PRUEBA	
		C.S.T.	C.T.	C.S.T.	C.T.	C.S.T.	C.T.
NOEMAL	X	-	-	+	+	-	-
RETAL	X	-	-	+	+	-	-

+ crecimiento positivo, - crecimiento negativo, X número de tratamiento, Los tratamientos probados fueron seleccionados al azar y el total probado fue de 16, los cuales fueron: 1, 2, 5, 7, 9, 11, 12, 15, 17, 20, 22, 23, 25, 26, 28 y 30. C.S.T. caldo soya tripticasa, C.T. caldo de tioglicolato.

El polímero obtenido en los diferentes tratamientos se trató de acuerdo a la metodología mencionada con anterioridad, debido a los resultados obtenidos para los diferentes tratamientos y para cada una de la gelatinas la tabla se muestra de forma general.

Del número de tratamientos que se muestraron y que se probaron al azar se consideró innecesario ensayar todos los demás tratamientos puesto que en el material que se realizó se tomaron las concentraciones más altas y más bajas de resorcinol no reaccionante para cada una de las gelatinas siendo para la gelatina Normal de 7.99 a 13.22% y para la gelatina Retal de 7.92 a 15.04%. Por esta razón se consideró innecesario efectuar los demás tratamientos puesto que las concentraciones restantes entran dentro de estos intervalos y los resultados que se obtendrían serían los mismos.

De los resultados puede observarse que la concentración de resorcinol no reaccionante en la reacción de polimerización es suficiente para dar un producto estéril el cual va a mantenerse en estas condiciones aún después de ser usado, pero debido a que un producto estéril no puede guardarse por tiempo indefinido después de haber sido abierto y por razones de seguridad sólo puede usarse durante el transcurso de una cirugía.

De aquí se concluye que el producto obtenido de esta reacción de polimerización es estéril para cualquiera de las gelatinas y que se puede mantener así durante un tiempo aproximado de 4-6 meses.

ADHESIVIDAD DEL POLIMERO GELATINA-RESORCINOL-FORMOL

Con respecto a los resultados de la adhesividad del producto se observó que si no se tiene cuidado en la aplicación del formaldehído en forma de spray puede causarse una agresión tisular muy grande, además los vapores resultantes de este rocío causan mucha irritación a la gente que se encuentre cerca, debido

a que la concentración que se usa es muy grande(37%), debido a que en la literatura consultada se encontró que esta concentración es la utilizada en las reacciones de polimerización(23), y de esta manera el formaldehído elimina el carácter antigénico que pudiera presentar la gelatina, además de que ayuda a formar una estructura más compleja del polímero.

De acuerdo a la metodología que se describió con anterioridad se obtuvo que independientemente del número de capas de producto que se aplican en cada una de las heridas se debe tener cuidado en la cantidad del formaldehído que se adicione a cada una de ellas porque si se efectúa el cierre de la herida, puede haber mayor o menor agresión del tejido dependiendo de la cantidad del formaldehído roceado.

La adhesividad se evaluó de acuerdo a la técnica descrita en la metodología, y se pudo observar que en las heridas en las cuales se aplicaron las diferentes capas del producto si hay un cierre efectivo de la misma puesto que al efectuar la observación de la superficie y de la parte interna de la herida se encontró que el polímero une al tejido cerrando al herido de manera homogénea a lo largo de todo el corte.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos para ambas gelatinas puede observarse que el producto que se obtiene si es estéril y esto va a ser apoyado por que la cantidad de resorcinol no reaccionante es suficiente para mantener el producto en estas condiciones que el formaldehído que también se usa como bactericida se encontrará aparte en una botella a partir de la cual será asperjado. Por otra parte para la obtención de un producto que fuera líquido aún después de terminar el proceso de fabricación se encuentra que la gelatina retal es la que conserva esta característica durante todo el tiempo en que se realizaron las observaciones. El polímero obtenido es afectado por las variables que se seleccionaron para el proceso. De ellas se obtuvieron algunas formulaciones las cuales pueden volver a ensayarse para encontrar algunos otros datos que den mayor confiabilidad de su uso, además de realizarles otra serie de pruebas para corroborar los resultados obtenidos.

Con respecto a la gelatina Normal puede decirse que por no dar un polímero líquido, se descarta aunque en los resultados esta presenta menos problemas puesto que no se ve afectada por las variables seleccionadas, tiene buena adhesividad es estéril y se puede trabajar en un intervalo amplio de velocidades de agitación y de temperaturas, pero el defecto crítico es que el polímero obtenido es un sólido, siendo esta una gran desventaja puesto que para usarla se le tiene que calentar en un baño maría y no dejar que la temperatura disminuya abajo de 40°C porque se empieza a solidificar y de esta manera ya no es posible

aplicarla. Como recomendación se sugiere efectuar una validación del método de fabricación pero ahora utilizando los procesos que se seleccionaron como estándares y que son en total, a saber:

GELATINA RETAL

CON ANTIOXIDANTE		SIN ANTIOXIDANTE	
60 RPM	45°C	60 RPM	45°C
		80 RPM	45°C

Para la Gelatina Normal se puede seleccionar cualquier tratamiento ya que de acuerdo a los resultados se encontró que no hay variación significativa de los datos porque no son afectados por las variables que se manejaron en este caso velocidad de agitación y temperatura en los intervalos fijados, por tanto pueden tomarse los mismos que se encuentran en la parte superior para la gelatina retal, además estos pueden servir como patrones de comparación del comportamiento del proceso puesto que en este caso esta gelatina no sufre ninguna variación aún cuando la temperatura no sea uniforme cosa que no sucede con el otro tipo de gelatina por lo tanto es necesario en tener un control estricto de la temperatura, la velocidad de agitación.

Se sugiere que después de validar el proceso de fabricación se efectúen los estudios farmacológicos "in vivo" puesto que los resultados pudieran variar al usar animales vivos.

Para terminar, las conclusiones se pueden enumerar en los siguientes puntos:

CONCLUSIONES

- 1.- La gelatina normal produce polímeros sólidos bajo todas las condiciones probadas lo que es un problema para su uso en clínica.
- 2.- Con la gelatina retal se obtiene un polímero líquido bajo todas las condiciones de fabricación evaluadas.
- 3.- Las condiciones de proceso más adecuadas para la fabricación del polímero con la gelatina retal son de 60-80 rpm a 45°C sin antioxidante y de 60 rpm a 45°C con antioxidante.
- 4.- El polímero obtenido bajo las condiciones mencionadas en el punto anterior es adhesivo, estéril y físicamente estable.

BIBLIOGRAFIA

- (1) R. Arthur Guyton, Fisiología Médica, 4a ed. Ed. Interamericana, Buenos Aires 1980.
- (2) Manuel Litter, Farmacología, 3a. Ed. El Ateneo, Buenos Aires 1969.
- (3) B. Alexander, Ann. J. Med., 33, 600, (1959)
- (4) Rubenstein E. Fedman, Medicine, Ed. Scientific American, New York, 1,1,5, VI, 1-40 (1987).
- (5) S. Sherry, et al., Physic. Rev, 39, 343, (1959)
- (6) N Alkjaersig, et al., J. Biol. Chem, 233, 86, (1958)
- (7) Manuel Litter, Compendio de Farmacología, 1a. Ed., El Ateneo Buenos Aires 1975.
- (8) Biggs R. and Macfarlane, R. G., Human Blood Coagulation and its Disorders, 3th Ed, Blackwell Scientific Publications, Oxford 1962.
- (9) Kallman, Z. S. Ann. Chir., 26, 807, (1972)
- (9) Selmann T. A. Manual of Pharmacology, 8th Ed., W. B. Saunders Co. Philadelphia 1957.
- (11) Dykes E.R., and Anderson R., J. A. M. A., 177, 716, (1961)
- (12) Matsumoto T., et al., Arch. Surg., 94, 858, (1967)
- (13) Palladini, P., J. Urol. Nephrol., 72, 399, (1966)
- (14) Turini, D., et al., Chir. Urol., 9, 742, (1967)
- (15) Bronchek, L., et al., Surg. Gynec. Obstet., 125, 1301, (1967)
- (16) Taticles, C. J., Surgery, 60, 857, (1966)
- (17) Morrison and Eyd, Química Orgánica, 3a. Ed, Fondo Educativo Interamericano S. A., USA, 1978
- (18) E. Alexander, et al., Circulation, 6, 367, (1960)
- (19) "The Nomenclature of Blood Clotting Factors, J. Am. Med. Assoc. 180, 733, (1962)
- (20) The Transactions of the Conferences Held Under the Auspices of International Committee on Blood Clotting Factors, Glencagles, Scotland, July 21, 1963

- (21) Transactions of the Conferences Held Under the Auspices of International Committee on Blood Clotting Factors, I.S. Wright, F. Keller, eds. "Heparin and Thromboplastin, Stecg Holm, Swden, July, 8, 1962.
- (22) B. Alexander, Am. J. Med., 33, 680, (1962)
- (23) Encyclopedia of Chemical Technology, E. Kirk-Othmer, Third Ed. V 13, 39, John Wiley and Sons
- (24) Y. Mukoyama, J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed., 11, 3193, (1973)
- (25) W.C. Wake, Developments in Adhesives, 1st ed., Applied Science Publisher Ltd, London, Eng, 181, 1978
- (26) Proposed Definition for Food Grade Gelatin in 1979, Gelatin Manufacturers Institute of American Inc, New York
- (27) Ibid ref. 22 p 711.
- (28) C.R. Smith, J. Am. Chem. Soc, 43, 1350 (1966)
- (30) J.F. Walder, Formaldehyde, 3rd Ed, Reinhold Publishing Corp., New York 1974
- (31) Registry of Toxic Effects of Chemical Substances Vol II, U.S. Dept of Health Education and Welfare 1977
- (32) D.W. Fosset in Industrial Hygiene and Toxicology, 2nd ed., Vol II, Interscience Publishers, Inc. New York 1965
- (33) F. Watanabe Jpn. J. Cancer Res., 45, 452(1954).
- (34) H.S. Rosenskrans, Bull Environ. Contam. Toxicol. 8, 4(1972).
- (35) P. Notteshiem, Prog. Exp. Res. 24, 330(1979).
- (36) R.G. Solyanik, Genetika 813, 169(1972).
- (37) P. Prepping and F. Vogel. Triangle 12, (2), 49, (1973).
- (38) H. Hurni. Food Cosmet. Toxicol. 11, 459(1973).